

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR BEEINFLUSSBARKEIT
VON NEISSERIA GONORRHOEAE
DURCH UNTERSCHIEDLICHE
CEPHALOSPORINKONZENTRATIONEN
AUF DÜNNSCHICHTTRANSPARENTAGAR

Klara F. Weber



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554822_0032

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr.h.c. O. Braun-Falco

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSBARKEIT
VON
NEISSERIA GONORRHOEAE
DURCH
UNTERSCHIEDLICHE CEPHALOSPORINKONZENTRATIONEN
AUF
DÜNNSCHICHTTRANSPARENTAGAR

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Klara F. Weber

aus
München

Jahr

1 9 8 6

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: ..Priv.Doiz.. Dr.. H.C.. Korting.....
.....
Mitberichterstatter: ..Prof.. Dr.. Dr.h.c.. O.. Braun-Falco.....
.....
Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: ..Prof.. Dr.. G.. Ruckdeschel.....
.....
Dekan: ..Prof.. Dr.. W.. Spann.....
.....
Tag der mündlichen Prüfung: ..15.. Januar 1987.....

1.1. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.2. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.3. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.4. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.5. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.6. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.7. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.8. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.9. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.10. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.11. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.12. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.13. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.14. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.15. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.16. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.17. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.18. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.19. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.20. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.21. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.22. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.23. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.24. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.25. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.26. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.27. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.28. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.29. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.30. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.31. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.32. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

1.33. Zielsetzung und Zwecksetzung des Projekts

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	7
2.1. Stämme und Kulturbedingungen	7
2.2. Keimzahlbestimmung	8
2.3. Hemmstoffe und Bestimmung ihrer minimalen Hemmkonzentration (MHK)	9
2.4. Licht- und Elektronenoptik	10
2.4.1. Abklatschpräparate	10
2.4.2. Dünnschnitte	10
2.5. Morphologische Untersuchungen	12
2.5.1. Wachstum von Neisseria gonorrhoeae ohne Hemmstoff ..	12
2.5.2. Wachstum von Neisseria gonorrhoeae unter Penizillin- einfluß	13
2.5.3. Wachstum von Neisseria gonorrhoeae unter Ceftizoxim- einfluß	13
2.5.4. Wachstum von Neisseria gonorrhoeae unter Cefotiam- einfluß	13
3. Ergebnisse	15
3.1. Keimzahlbestimmung	15
3.2. Agardilutionstest (MHK-Bestimmung)	15
3.3. Morphologie von Neisseria gonorrhoeae ohne Hemmstoffeinfluß	16
3.3.1. Lichtmikroskopie	16
3.3.2. Elektronenmikroskopie	16
3.4. Morphologie von Neisseria gonorrhoeae bei 1/8 der MHK von Penizillin, Ceftizoxim, Cefotiam	18
3.4.1. Lichtmikroskopie	18
3.4.2. Elektronenmikroskopie	19
3.5. Morphologie von Neisseria gonorrhoeae bei 1/4 der MHK von Penizillin, Ceftizoxim, Cefotiam	20
3.5.1. Lichtmikroskopie	20
3.5.2. Elektronenmikroskopie	21

INHALTSVERZEICHNIS

3.6. Morphologie von <i>Neisseria gonorrhoeae</i> bei 1/2 der MHK von Penizillin, Ceftrizoxim, Cefotiam	23
3.6.1. Lichtmikroskopie	23
3.6.2. Elektronenmikroskopie	24
3.7. Morphologie von <i>Neisseria gonorrhoeae</i> bei 1/1 der MHK von Penizillin, Ceftrizoxim, Cefotiam	25
3.7.1. Lichtmikroskopie	25
3.7.2. Elektronenmikroskopie	25
4. Besprechung	26
4.1. Morphologie ohne Einfluß von Antibiotika	26
4.2. Morphologie unter dem Einfluß der Hemmstoffe Penizillin, Ceftrizoxim, Cefotiam	27
4.3. Abschließende Betrachtung	29
5. Zusammenfassung	30
6. Anhang: Abbildungen zum Text	31
7. Literaturverzeichnis	50

Morphologische Untersuchungen zur Beeinflußbarkeit
von
Neisseria gonorrhoeae
durch
unterschiedliche Cephalosporinkonzentrationen
auf
Dünnschichttransparentagar

1. EINLEITUNG

Untersuchungen zu morphologischen Veränderungen von Bakterien sowohl während deren normaler Lebensspanne wie auch unter Einfluß von Antibiotika wurden bisher vorwiegend an Enterobakterien, vor allem *Escherichia coli*, (3, 6, 15, 21, 22, 27, 36) und an Gram-positiven Kokken, insbesondere *Staphylococcus aureus*, (7, 21, 26, 28, 31, 32, 39, 51, 52) durchgeführt; seltener finden sich entsprechende Untersuchungen an dem Gram-negativen Diplokokkus *Neisseria gonorrhoeae*, der doch zumindest in der Venerologie einige Beachtung verdient. (Tabelle 1.1.: Überblick über morphologische Befunde bei Gonokokken.).

Bisher morphologisch auffällig sind besonders die Pili (12, 41, 42, 54) und die Kapsel (9, 17, 18, 20, 49) einzelner Stämme von *Neisseria gonorrhoeae*.

Weitere Befunde werden vorwiegend nach Wachstum unter Antibiotikaeinfluß erhoben, entweder bei Untersuchungen vieler Bakterienarten im Vergleich (28, 30, 31) oder aber auch im Rahmen biochemischer Fragestellungen (4, 14, 57). Tabelle 1.2. gibt eine Zusammenstellung der Befunde und der verwendeten Antibiotika wieder.

Beim Großteil der Untersuchungen handelt es sich um Penizillin, das in Deutschland als Mittel der Wahl gegen *Neisseria gonorrhoeae* gilt (16, S. 31, 19, 50, S. 91).

Das vermehrte Auftreten Penizillin G-resistenter *N. go.* Stämme (2, 53, S. 25, 60, S. 614) führt zur Suche anderer therapeutischer Möglichkeiten (24, 25). Einzelne Cephalosporine erweisen sich bereits *in vitro* oder/und *in vivo* ziemlich wirksam gegen *N. go.* (5, 25, 40) und stellen somit eine Alternative zum Penizillin G dar.

Untersuchungen der Cephalosporinwirkung auf die Bakterienmorphologie liegen vorwiegend an *Escherischia coli* und *Staphylococcus aureus* vor (Tabelle 1.3.).

Tabelle 1.1.: Überblick über morphologische Befunde bei Gonokokken.

Jahr	Autören		Lichtmikroskopie
1963	Murray et al.	(38)	Tetraden, abwechselne Teilung in zwei Ebenen.
1964	Fitz-James	(10)	
1971	Ovčinnikov, Delektorskij	(44)	
1974	Ovčinnikov et al.	(45)	
1975	Novotny et al.	(41)	
1976	Olmos	(43)	
1976	Ovčinnikov et al.	(46)	
1977	Westling-Häggström et al.	(57)	Zweidimensionaler Wachstums- modus.
1978	Demarco et al.	(9)	

Tabelle 1.1.: Fortsetzung.

Elektronenmikroskopie

Mesosomen, Lyse, dreischichtiger Aufbau der Zellwand.	(38)
Dreischichtige Zellwand, weniger dichte Mittelschicht, Zellmembran im Doppellinienprofil, ausgeprägtere halbkugelförmige Einschnürung auf der Seite des Teilungsbeginns; Mesosomen von der Teilungsebene entfernt, weitere Teilung und dann vollständige Trennung.	(10)
Dreischichtige Zellwand, dreischichtige Zytoplasmamembran, Ribosomen, Kernvakuolen, Teilung in 2 oder 4 Teile (Tetrakokkus), L-Formen, Vermehrung durch Knospung, Mesosomen, keilförmiges Einwachsen der Zellwand in das Zytoplasma.	(44)
Ribosomen, Mesosomen, Zytoplasmamembran, dreischichtige Außenwand, L-Formen, Riesenformen.	(45)
L-Schicht, plasmanaher Zwischenraum, g-Schicht.	(41)
Mesosomen, Ribosomen, L-Formen.	(43)
Kokkus mit Nukleoid, Ribosomen, Mesosomen, drei- bzw. sechschichtige Zellwand, Zytoplasmamembran.	(46)
Teilung durch Septenbildung (Zytoplasmamembran wächst ein), kugelförmige Körperchen an der Zelloberfläche.	(57)
Zellwand, dichte Schicht, Zytoplasmamembran.	(9)

Tabelle 1.2.: Antibiotikum und Befund: eine Zusammenstellung für N. go.

Jahr	Autoren	Antibiotikum	Lichtmikroskopie	Elektronenmikroskopie
1975	Lorian, Atkinson (30)	Penizillin	Tetraden, Konglomerate von 8 und 16 Zellen.	Verbreiterte Septen, Vergrößerung, unregelmäßige Konfi- guration.
1976	Lorian (28)	Penizillin	Tetraden, Konglomerate von 8 und 16 Zellen.	Verbreiterte Septen.
1976	Lorian, Atkinson (31)	Penizillin		Zellvergrößerung, Septumverdickung, Lyse.
1976	Ovcinnikov et al. (46)	Kanamycin, Penizillin		Deformierung, Lyse.
1977	Westling- Häggsström et al. (57)	Nalidixin- säure		Hemmung der Zellsepa- ration, Vorwölbung in Septumbereich, "kuge- lige" Gebilde.
1977	Ward	Spectinomycin		Lokalisierte Vorwöl- bung, große, transpa- rente Ausstülpungen, Lyse, Zytoplasmaaus- schleusung.
1978	Goodell et al. (14)	Penizillin		Membranausstülpung (äußere Membran), Bläschenbildung, Mesosomen, Lyse.
1981	Blundell, Perkins (4)	Thienamycin, Penizillin		Septumverdickung, Bläschenausstülpung, Zellgrößenzunahme, Arzneimittelkonzen- trationsabhängigkeit.

Tabelle 1.3.: Cephalosporinwirkung auf die Morphologie unterschiedlicher Bakterienarten.

Autoren	Bakterienart	Cephalosporin	Jahr
Klainer, Perkins (22)	E. coli	Cefalotin	1970
Greewood, O'Grady (15)	E. coli	Cefalotin Cefaloridin Cefalexin Cefalosporin C	1973
Burdett, Murray (6)	E. coli	Cefalotin	1974
Nakao et al. (39)	E. coli	Cefmenoxim	1981
Lorian, Sabath (33)	Proteus mirabilis	Cefalotin Cefaloridin Cefaloglycin 7-Aminocephalosporan- säure	1972
Perkins, Miller (47)	Proteus mirabilis	Cefalotin Cefaloridin	1973
Zimmerman, Stapely (59)	Enterobacter cloacae	Cefoxitin	1976
Klainer, Perkins (22)	Staphylococcus aureus	Cefalotin	1970
Klainer, Perkins (23)	Staphylococcus aureus	Cefalotin	1971

Im folgenden befasse ich mich mit der Morphologie von *N. go.*

- im antibiotikumunbeeinflussten Lebensspann
- unter Einfluß von Penizillin
- unter sowohl Ceftizoxim- als auch Cefotiameinfluß.

Wichtig erscheinen besonders die Effekte der Antibiotika im Bereich zwischen ihrer jeweiligen minimalen antibakteriellen Konzentration (29) und ihrer jeweiligen minimalen Hemmkonzentration, der MHK.

Nach LORIAN (29) ist die minimale antibakterielle Konzentration definiert als kleinste Antibiotikumkonzentration, die eine licht- oder elektronenmikroskopisch sichtbare Strukturveränderung hervorruft; und die minimale Hemmkonzentration (MHK) wird allgemein aufgefaßt als kleinste Antibiotikumkonzentration, die das Erregerwachstum hemmt (24, 29, 33).

Möglicherweise wird bereits durch diese subinhibitorischen Antibiotikakonzentrationen die Gonokokkenmorphologie so beeinflusst, daß die Veränderungen für den Therapieerfolg von Bedeutung sind (29).

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. STÄMME UND KULTURBEDINGUNGEN

Ich verwendete aus klinischem Untersuchungsmaterial isolierte, nicht β -Lactamase-bildende N. go. Stämme (9520/81 und 1039/82), nachdem sie mit den üblichen Methoden identifiziert worden waren:

Zusammenstellung nach NEUBERT et al. (40):

- Wachstum auf modifiziertem Thayer-Martin Schokoladenagar versetzt mit V-C-N-Inhibitor (BBL, Heidelberg, FRG)
- Morphologie der Kolonien
- Oxidase-Reaktion
- Gramfärbung
- Fermentationsreaktionen

Als Kontrollstamm diente WHO VII, der aus dem WHO Reference Center in Kopenhagen, Dänemark, stammte.

In Anlehnung an KORTING (24) lagerte ich die Versuchsstämme bei -70°C , taute sie bei Bedarf auf und subkultivierte sie auf Schokoladenagar als Übernachtskultur (20 Stunden) bei 37°C und unter 5% CO_2 -Spannung (4).

Den Schokoladenagar nach KORTING (24) stellte ich folgendermaßen her (Ansatz für zwei Liter):

90 g Proteose No. 3 (Difco, Detroit, Mich., USA) in einem Liter Aqua dest. und 20 g Rinderhämoglobineextrakt (Difco, Detroit, Mich., USA) in einem weiteren Liter Aqua dest. über Nacht quellen lassen, anschließend die beiden Ansätze getrennt bei 120°C autoklavieren, auf 56°C abkühlen lassen, dann steril zusammenschütten, 20 ml steril gelöstes IsoVitalX (BBL, Heidelberg, FRG) - eine 10% Glucoselösung - pro Liter Nährboden zugeben, gut mischen, und je 25 ml in sterile Petrischalen mit einem Durchmesser von 9 cm gießen.

In den Versuchsansätzen für die licht- und elektronenmikroskopischen

Untersuchungen verwendete ich den Transparentagar nach HENDLEY (18) sowohl in dicker als auch in dünner Schicht.

Transparentagar nach HENDLEY (18),
(Ansatz für 100 ml):

Im ersten Erlenmeyerkolben zu 1,5 g Proteose No. 3 (Difco, Detroit, Mich., USA) und 0,1 g Stärke (Difco, Detroit, Mich., USA) 50 ml Aqua dest. geben und mittels eines Bleifisches bei Raumtemperatur rühren bis die Substanzen gelöst sind.

Im zweiten Erlenmeyerkolben ebenfalls bei Raumtemperatur eine Lösung aus 1 g Rinderhämoglobineextrakt (Difco, Detroit, Mich. USA) und 50 ml Aqua dest. herstellen, diese Lösung dem Inhalt des ersten Erlenmeyerkolbens zuschütten und die Mischung 15 min. bei 120° C autoklavieren.

Anschließend die Lösung filtrieren (Melitta Filterpapier), dem Filtrat 0,477 g (0,02 M) HEPES-Puffer (Roth, Karlsruhe, FRG) und 1,2 g Agar-Agar (Serva, Heidelberg, FRG) zugeben, mischen, 15 min. bei 120° C autoklavieren.

Nach Abkühlen auf 56° C die Lösung steril mit Natronlauge (NaOH; Merck, Darmstadt, FRG) auf einen pH-Wert von 7,2 - 7,3 einstellen, 1 ml steril gelöstes fünfprozentiges IsoVitaleX (BBL, Heidelberg, FRG) zugeben und gleich darauf steril als Dick- bzw. Dünnschichtagar gießen:

Dickschichtagar: Je 25 ml pro Petrischale mit 9 cm Durchmesser;

Dünnschichtagar: Je 5 ml Pro 9 cm-Petrischale bzw. je 1 ml pro Objektträger mit Mattrand.

Die Bebrütungsbedingungen waren auf Transparentagar die gleichen wie auf Schokoladenagar (37° C, 5% CO₂, 20 Stunden).

2.2. KEIMZAHLBESTIMMUNG

Ich züchtete die beiden N. go. Stämme 9520/81 und 1039/82 über Nacht auf Schokoladenagar und stellte dann von jedem Stamm eine Suspension mit der geringen optischen Dichte $\Delta E \hat{=} 0,15$ bei einer Wellenlänge von 500 nm her.

Pro Liter Suspensionsmedium nach KORTING (24) löste ich 30 g tryptische Soja-Bouillon (TSB; BBL, Heidelberg, FRG) in einem Liter Aqua dest., autoklavierte die Lösung 15 min. bei 120° C und gab nach Abkühlen auf 56° C 10 ml zehnprozentiges IsoVitaleX (BBL, Heidelberg, FRG) zu; die Bakterien erst nach Abkühlen auf 40° C.

Die Keimzahl in der Suspension mit $\Delta E \hat{=} 0,15$ bestimmte ich mittels folgender Verdünnungsreihe: 1:10, 1:10², 1:10³, 1:10⁴, 1:10⁵, 1:10⁶.

Von jeder der beiden Verdünnungsreihen (Stamm 9520/81 und Stamm 1039/82) spatelte ich je Stamm und Verdünnungsstufe 100 µl der Suspension auf einer getrockneten Schokoladenagarplatte aus und bebrütete sie 48 Stunden (58,S.122) bei 37° C unter 5% CO₂-Spannung.

2.3. HEMMSTOFFE UND BESTIMMUNG IHRER MINIMALEN HEMMKONZENTRATION (MHK)

Ich verwendete die β -Lactam-Antibiotika Penizillin G (Grünenthal, Stolberg/RHLD, FRG), Ceftizoxim (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, FRG) und Cefotiam (Grünenthal, Stolberg/RHLD, FRG).

Ceftizoxim und Cefotiam sind Cephalosporine, wobei ersteres zur Cefotaxim-Gruppe, letzteres zur Cefuroxim-Gruppe zählt (53,S.4).

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) jedes Antibiotikums für jeden der beiden N. go. Stämme (9520/81 und 1039/82) bestimmte ich mit dem Agar-dilutionstest (24, 25) sowohl auf Schokoladenagar (s. Kap. 2.1.) wie auch auf Dickschicht- und Dünnschichttransparentagar (s. Kap. 2.1.).

Von jedem Hemmstoff stellte ich aseptisch eine Verdünnungsreihe in den drei oben genannten sterilen Kulturmedien her. Die Konzentrationen der Verdünnungsstufen, jeweils bezogen auf 1 ml Nährboden, reichten bei Penizillin von 2 µg/ml bis 0,0005 µg/ml, bei Ceftizoxim von 0,03 µg/ml bis 0,00025 µg/ml und bei Cefotiam von 0,5 µg/ml bis 0,002 µg/ml.

Von den über Nacht auf Schokoladenagar subkultivierten N. go. Stämmen 9520/81, 1039/82, WHO VII (37° C, 5% CO₂, 20 Stunden) brachte ich je-

weils soviel Material in 40° C warmes, steriles Suspensionsmedium (s. Kap. 2.2.) ein, daß die Bakterien bei 500 nm eine Trübung von $\Delta E \hat{=} 0,15$ verursachten.

Anschließend wurden die Suspensionen der verschiedenen N. go. Stämme auf die Mutterplatte eines geeichten Stempelautomaten (Denley; Mast, Hamburg, FRG) aufgebracht, und jeweils zwei Nährbodenplatten gleicher Hemmstoffkonzentration mit je 1 µl Suspension jedes Stammes bestempelt, angefangen bei den Kontrollen ohne Hemmstoff bis hinauf zur höchsten Konzentration.

Nach 20-stündiger Bebrütung bei 37° C und 5% CO₂ stellte ich fest, bei welcher Konzentration das Bakterienwachstum gerade noch gehemmt war, d.h. gerade noch kein Bakterienwachstum mit bloßem Auge erkennbar war. Diese Konzentration setzte ich dem MHK-Wert des jeweiligen Antibiotikums für den entsprechenden N. go. Stamm gleich (24, 29, 33, 35).

2.4. LICHT- UND ELEKTRONENOPTIK

2.4.1. Abklatschpräparate

Nach der Methode von LORIAN und SABATH (33) übertrug ich die auf dem Dünnschichttransparentagar gewachsenen Gonokokken durch Abklatschen auf einen sterilen Objektträger und färbte das Präparat nach Hitze-fixierung zwei Minuten mit Methylenblau (Merck, Darmstadt, FRG).

Anschließend befestigte ich ein Deckgläschen mit einem Tropfen Immersionsöl auf dem Präparat und betrachtete das Material mit einem Leitz-Orthoplan-Photomikroskop (Leitz, Wetzlar, FRG) mit dem Öl-Immersionsobjektiv 100-fach.

Die Endvergrößerung auf den entwickelten Bildern war 1250-fach.

2.4.2. Dünnschnitte

In Anlehnung an ARKO et al. (1) sammelte ich das auf den Dünnschichttransparentagar-Petrischalen gewachsene Material mit einer Impföse, die

ich durch Ausglühen immer wieder sterilisierte und dann erkalten ließ.

Das Material von wenigstens 10 Petrischalen brachte ich auf diese Art in ein Reaktionsgefäß (Eppendorf 3810, FRG) ein, gefüllt mit 200 µl 40° Celsius warmer und mit IsoVitaleX angereicherter tryptischer Soja-Bouillon (Rezept s. Kap. 2.2.).

Diese Suspension zentrifugierte ich fünf Minuten lang bei 3000 U/min., schüttete den Überstand ab, füllte das Hütchen mit 200 µl zweiprozentigem Glutaraldehyd in 0,1 molarem Dinatriumhydrogenphosphatpuffer (pH 7,3; Merck, Darmstadt, FRG) und ließ dieses Reagenz eine Stunde lang einwirken (Vorfixierung).

Anschließend wurde der Überstand abgeschüttet, Rinderalbuminlösung (BBL, Heidelberg, FRG) zugegeben und erneut zentrifugiert (10 Minuten bei 3000 U/min.).

Das Sediment wurde dann dreimal 10 Minuten lang mit Dinatriumhydrogenphosphatpuffer (Merck, Darmstadt, FRG) gewaschen, mit einprozentigem Osmiumtetroxid in 0,1 molarem Dinatriumhydrogenphosphatpuffer (Merck, Darmstadt, FRG) nachfixiert und erneut dreimal 10 Minuten mit Dinatriumhydrogenphosphatpuffer gewaschen.

Der Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (je 10 Minuten in 30%, 50%, 70%, 90%, 100%, 100%-igem Alkohol) folgte die Einbettung in Epon nach LUFT (34):

Das Sediment wird zweimal 15 Minuten mit Propylenoxid bedeckt, dann eine Stunde einer Lösung ausgesetzt, die zur Hälfte aus Propylenoxid und zur anderen Hälfte aus Epon, zwei Härtern (DDSA und MNA) und einem Reaktionsbeschleuniger (Katalysator, DMP-30) besteht.

Nun wird das Sediment in die Epon - Härter - Beschleuniger - Lösung eingebracht, die kein Propylenoxid mehr enthält; nach dem Absinken wird das Material in ebenfalls mit Epon -Härter - Beschleuniger - Lösung gefüllte Formen übertragen, in denen es bis zur endgültigen Aushärtung verbleibt.

Nach der Aushärtung wurden mit Hilfe eines Reichert-OMU-2-Ultramikrotoms (Reichert, Wien, Österreich) Semi- und Ultradünnschnitte angefertigt.

Die Semidünnschnitte wurden mit Pyronin G und Toluidinblau angefärbt, dann mit einem Leitz-Orthoplan-Photomikroskop (Leitz, Wetzlar, FRG) mit dem Öl-Immersionsobjektiv 100-fach betrachtet.

Die Ultradünnschnitte wurden mit Uranylazetat und Bleizitrat kontrastiert (48) und anschließend mit einem Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9 (Zeiss, Oberkochen, FRG) bei den unterschiedlichen Vergrößerungsstufen 1750-, 6000- und 19000-fach betrachtet.

2.5. MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Ich kultivierte jeden der beiden N. go. Stämme (9520/81 und 1039/82) jeweils auf drei Dünnschichttransparentagar-Objektträgern und auf 15 Dünnschichttransparentagar-Petrischalen pro verwendeter Hemmstoffkonzentrationsstufe (Herstellung der Nährböden s. Kap. 2.1. und Kap. 2.3.).

Die Objektträger bespaltete ich mit je 10 µl, die Petrischalen mit je 50 µl einer Suspension ($\Delta E \hat{=} 0,15$) des entsprechenden Gonokokkenstammes.

Die Aufbereitung für die licht- und elektronenoptischen Untersuchungen (s. Kap. 2.4.1. und Kap. 2.4.2.) erfolgte im Anschluß an eine 20-stündige Bebrütungsphase bei 37° C unter 5% CO₂-Spannung.

2.5.1. Wachstum von *Neisseria gonorrhoeae* ohne Hemmstoff

Für die licht- und elektronenoptische Dokumentation der Morphologie des normalen Wachstums von Gonokokken kultivierte ich die Stämme 9520/81 und 1039/82 wie unter Kap. 2.5. beschrieben auf Dünnschichttransparentagar ohne Hemmstoff- (Antibiotikum-) zusatz, also der Hemmstoffkonzentrationsstufe Null.

Im folgenden untersuchte ich von jedem Stamm lichtmikroskopisch die Abklatschpräparate und die Semidünnschnitte, elektronenmikroskopisch die Ultradünnschnitte.

2.5.2. Wachstum von *Neisseria gonorrhoeae* unter Penizillineinfluß

Ich kultivierte die Stämme 9520/81 und 1939/82 wie unter Kap. 2.5. beschrieben auf Dünnschichttransparentagar mit Penizillinzusatz (Penizillin G; Grünenthal, Stolberg/RHLD, FRG), wobei ich Objektträger der Stufen Null (Kontrolle), MHK, 1/2 MHK, 1/4 MHK und 1/8 MHK verwendete. (Lichtmikroskopie).

Für die Dünnschnitte kultivierte ich Gonokokken auf Petrischalenagar der Stufe 1/2 MHK und der Stufe 1/4 MHK.

(Die dem jeweiligen Stamm entsprechenden MHK-Werte in µg/ml Nährboden sind aus den Ergebnissen der MHK-Bestimmung (s. Kap. 3.2.) ersichtlich.)

2.5.3. Wachstum von *Neisseria gonorrhoeae* unter Ceftrizoximeinfluß

Wie unter Kap. 2.5. beschrieben, kultivierte ich die Stämme 9520/81 und 1039/82 auf Dünnschichttransparentagar unter Ceftrizoximzusatz (Ceftrizoxim; Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, FRG).

Die Objektträgerkulturen wuchsen auf Hemmstoffstufe Null (Kontrolle), MHK, 1/2 MHK, 1/4 MHK und 1/8 MHK;

das Material für die Dünnschnitte kultivierte ich auf Petrischalenagar der Stufen MHK, 1/2 MHK, 1/4 MHK und 1/8 MHK.

(Die MHK-Werte in µg/ml Nährboden sind aus den Ergebnissen des Agardilutionstests (s. Kap. 3.2.) ersichtlich.)

2.5.4. Wachstum von *Neisseria gonorrhoeae* unter Cefotiameinfluß

Ich legte Objektträgerkulturen der Hemmstoffkonzentrationen (Cefotiam; Grünenthal, Stolberg/RHLD, FRG) Null (Kontrolle), MHK, 1/2 MHK, 1/4 MHK und 1/8 MHK an (s. Kap. 2.5.).

Material für die Dünnschnitte kultivierte ich auf Petrischalenagar der Stufen MHK, $1/2$ MHK, $1/4$ MHK und $1/8$ MHK.

(Die MHK-Werte für Cefotiam sind aus dem Ergebniskapitel 3.2. ersichtlich.)

3. E R G E B N I S S E

3.1. KEIMZAHLBESTIMMUNG

Die geringste Anzahl von Kolonien wuchs bei beiden Stämmen auf der Platte mit dem Verdünnungsfaktor 10^5 ; $1,4 \times 10^1/100 \mu\text{l}$ bei Stamm 1039/82 und $3,8 \times 10^1/100 \mu\text{l}$ bei Stamm 9520/81.

Es ergab sich eine Keimzahl von 10 000 (10^4) pro μl der Gonokokkensuspension der optischen Dichte $E \hat{=} 0,15$.

3.2. AGARDILUTIONSTEST (MHK-BESTIMMUNG)

Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung im Agardilutionstest sind in Tabelle 3.1. zusammengestellt.

Tabelle 3.1.: MHK-Werte in μg Hemmstoff pro ml Nährboden,

Stamm	Nährboden Hemmstoff	Schokoladen- agar						Transparentagar	
		Dicke Schicht (Petrischale)		Dicke Schicht (Petrischale)		Dünne Schicht (Objektträger)			
9520/81	Penizillin	0,062	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$		
	Ceftizoxim	0,004	$\mu\text{g/ml}$	0,002	$\mu\text{g/ml}$	0,002	$\mu\text{g/ml}$		
	Cefotiam	0,062	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$		
1039/82	Penizillin	0,5	$\mu\text{g/ml}$	0,25	$\mu\text{g/ml}$	0,25	$\mu\text{g/ml}$		
	Ceftizoxim	0,016	$\mu\text{g/ml}$	0,008	$\mu\text{g/ml}$	0,008	$\mu\text{g/ml}$		
	Cefotiam	0,25	$\mu\text{g/ml}$	0,125	$\mu\text{g/ml}$	0,125	$\mu\text{g/ml}$		
WHO VII	Penizillin	0,062	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$		
	Ceftizoxim	0,002	$\mu\text{g/ml}$	0,001	$\mu\text{g/ml}$	0,001	$\mu\text{g/ml}$		
	Cefotiam	0,031	$\mu\text{g/ml}$	0,016	$\mu\text{g/ml}$	0,016	$\mu\text{g/ml}$		

Beim Transparentagar ergaben sich im Vergleich zum Schokoladenagar durchwegs eine Verdünnungsstufe niedrigere MHK-Werte; keinen Einfluß

auf die Höhe des MHK-Wertes hatte die Schichtdicke des Transparentagars.

Im folgenden beziehen sich Angaben zum MHK-Wert immer auf den beim Transparentagar ermittelten Wert, z.B. bedeutet 1/2 der MHK von Ceftizoxim bei Stamm 1039/82: 0,004 µg Ceftizoxim pro ml Nährboden.

3.3. MORPHOLOGIE VON NEISSERIA GONORRHOEAE OHNE HEMMSTOFFEINFLUSS

3.3.1. Lichtmikroskopie

Lichtmikroskopisch stellen sich auf den Abklatschpräparaten Kokken dar, die sich oft berühren und vorwiegend Diplokokken bilden; vereinzelt kommen auch Vierergruppen (Tetraden) vor (Abb. 1).

Hinsichtlich der Größe lassen sich bis auf wenige Ausnahmen kaum Unterschiede feststellen (Abb. 1).

Entsprechende Befunde zeigen sich auch auf den Semidünnschnitten (Abb. 2).

3.3.2. Elektronenmikroskopie

Elektronenoptisch können viele Formen von Gonokokken unterschieden werden.

Sehr selten sind Gonokokken - auch einzeln liegende - ohne jegliches Teilungszeichen (Abb. 3.1., Abb. 4.1.).

Die Teilung beginnt gewöhnlich asymmetrisch in einer Ebene (Abb. 3.2., Abb. 4.2.), später wird dann von beiden Seiten ausgehend das Septum gebildet, wobei jedoch eine deutliche Asymmetrie fortbestehen kann (Abb. 3.3., Abb. 4.3.).

Zugleich schreitet die Einschnürung in der Teilungsebene mehr (Abb. 3.4., Abb. 4.4.) oder weniger (Abb. 3.3., Abb. 4.3.) weit fort.

Nahe dem Bereich der Septumbildung kann das Mesosom (Mitochondrienäquivalent) lokalisiert werden (Abb. 3.4., Abb. 4.4.).

Die Bakterienzellwand besteht aus einer äußeren Membran mit daran anhaf-

tender, nicht immer sichtbarer Mureinschicht; es schließt sich ein periplasmatischer Raum und schließlich die Zytoplasmamembran an (Abb. 3.4., Abb. 4.4., Abb. 5).

Vor der Vollendung des Septums wird das Kernäquivalent (Nukleoid) in die beiden Tochterzellen verteilt (Abb. 3.5., Abb. 4.5.).

Die Zellen haften noch einige Zeit aneinander (Abb. 3.6., Abb. 4.6.) und trennen sich dann vollständig (Abb. 3.7., Abb. 4.7.).

Einige der neu gebildeten Zellen beginnen zu degenerieren (Abb. 3.8., Abb. 4.8.) und lysieren dann letztendlich (Abb. 3.9., Abb. 4.9.).

Während oben angeführte Gonokokkenformen zum normalen Lebenslauf gehören, so treten, wenn auch selten, einige zusätzliche - pathologische - Formen auf (13).

Manche Gonokokken sind, stark vergrößert, bereits als Riesenzellen zu bezeichnen (Abb. 3.10., Abb. 6.1.), andere wiederum sind sehr geschrumpft, pyknotisch (Abb. 3.11., Abb. 6.2.).

Die Septen können verdickt sein (Abb. 3.12., Abb. 6.3.), Blasen können aus der Zellwand - bevorzugte Lokalisation ist die Zellwand des Septumbereichs - hervortreten (Abb. 3.13., Abb. 6.4.).

Ungewöhnlich sind auch aus Zytoplasmamembran gebildete Einschlüsse, die sich von den Mesosomen unterscheiden (Abb. 3.14., Abb. 6.5.).

Falls die Kokken nach der Teilung in einer Ebene aneinander haften bleiben und sich nicht trennen, dann können Tetraden (Abb. 3.15., Abb. 6.6.) oder seltener auch andere Konglomerate, wie z.B. Triaden (Abb. 3.16., Abb. 6.7.), auftreten.

3.4. MORPHOLOGIE VON NEISSERIA GONORRHOEAE BEI 1/8 DER MHK VON PENIZILLIN, CEFTIZOXIM, CEFOTIAM.

In Tabelle 3.2. sind die 1/8-Werte der MHK zusammengestellt.

Tabelle 3.2.: 1/8 MHK-Werte in µg Hemmstoff pro ml Nährboden.

Stamm	Hemmstoff		Penizillin		Ceftizoxim		Cefotiam	
9520/81			0,004	µg/ml	0,00025	µg/ml	0,004	µg/ml
1039/82			0,031	µg/ml	0,001	µg/ml	0,016	µg/ml

3.4.1. Lichtmikroskopie

Bereits bei 1/8 der MHK jedes Hemmstoffs sind lichtmikroskopisch Veränderungen an den Abklatschpräparaten von N. go. sichtbar.

Unter Einwirkung von Penizillin treten an beiden Stämmen gehäuft Tetraden und einzelne vergrößerte Zellen auf (Abb. 7).

Die Ceftizoxim-Präparate (Abb. 8) lassen unterschiedlich vergrößerte Einzelzellen - bis hin zu wenigen Riesenzellen - erkennen.

Vergrößerte Diplokokken treten besonders bei Stamm 9520/81 auf, Tetraden und andere Konglomerate sind bei beiden Stämmen vorhanden, aber nicht häufig.

Die meisten Zellen der Cefotiam-Präparate (Abb. 9) zeigen ihre normale Größe, einige Zellen jedoch sind deutlich vergrößert und liegen vor allem als Diplokokken vor.

Tetraden kommen nur geringfügig häufiger vor als in Präparaten ohne Hemmstoff (Kontrolle; Abb. 1, Abb. 2).

Die lichtoptische Untersuchung der zugehörigen Semidünnschnitte zeigte den Abklatschpräparaten entsprechende Befunde (Abb. 10).

3.4.2. Elektronenmikroskopie

Elektronenoptisch zeigen bei 1/8 der MHK die Ceftizoxim-Präparate die deutlichsten Unterschiede zu den Kontrollpräparaten ohne Hemmstoff. Bereits bei der niedrigsten der verwendeten Vergrößerungen (Abb. 11) erkennt man bis zu einem bestimmten Ausmaß unterschiedlich vergrößerte Zellen.

Nicht völlig getrennte, sich noch in Teilung befindliche Zellen scheinen häufiger zu sein.

Ebenfalls in Übereinstimmung mit den lichtoptischen Befunden kommen vereinzelt Tetraden und andere Konglomerate wie z.B. Triaden vor.

Veränderungen der Membranen und Zellorganellen, hauptsächlich der Mesosomen, sind bei der nächsthöheren Vergrößerungsstufe (Abb. 12, Abb. 13) nicht schwer zu erkennen.

In vielen sich teilenden Zellen sieht man ein verdicktes Septum; meist haben diese Zellen eine Teilungsebene, manchmal kommen jedoch auch zwei Teilungsebenen gleichzeitig vor, was z.B. zur Tetrade (Abb. 11) führen kann. Hin und wieder wölben sich aus dem verdickten Septumbereich Blasen hervor.

Relativ häufig treten im Zytoplasma zusätzliche Membraneinschlüsse auf, die unter Umständen sogar die Größe eines normalen Gonokokkus erreichen (Abb. 12, Abb. 13, Abb. 14).

Die Zellen erscheinen sehr oft asymmetrisch, was durch Ausbuchtungen des Zytoplasmas an oft mehreren Stellen zugleich hervorgerufen wird.

Zum allgemeinen Zellbild gehören Mesosomen, die eine mehr oder weniger normale tubuläre oder lamelläre Struktur aufweisen (Abb. 12, Abb. 13).

Ebenfalls nicht ungewöhnlich sind pathologische Formen (13), nämlich kombinierte Mesosomen aus tubulären und lamellären Strukturen und Mesosomen, deren tubuläre oder/und lamelläre Anordnung stark verändert bis

zum Teil fast völlig zerstört ist (Abb. 13).

Degenerierende und lysierende Gonokokken scheinen leicht vermehrt aufzutreten.

Die elektronenoptischen Befunde der Cefotiam-Präparate entsprechen generell den lichtoptischen.

Zusätzlich sichtbar sind vereinzelte verdickte Septen und selten auch Blasen, die sich aus dem Septum oder anderen Stellen der Zellwand vorwölben.

3.5. MORPHOLOGIE VON NEISSERIA GONORRHOEAE BEI 1/4 DER MHK VON PENIZILLIN, CEFTIZOXIM, CEFOTIAM.

In Tabelle 3.3. sind die 1/4-Werte der MHK zusammengestellt.

Tabelle 3.3.: 1/4 MHK-Werte in μg Hemmstoff pro ml Nährboden.

Stamm	Hemmstoff		Penizillin		Ceftizoxim		Cefotiam	
9520/81			0,008	$\mu\text{g/ml}$	0,0005	$\mu\text{g/ml}$	0,008	$\mu\text{g/ml}$
1039/82			0,062	$\mu\text{g/ml}$	0,002	$\mu\text{g/ml}$	0,031	$\mu\text{g/ml}$

3.5.1. Lichtmikroskopie

Bei 1/4 der MHK jedes Hemmstoffs sind die Veränderungen an den Abklatschpräparaten von *N. go.* bei beiden Stämmen lichtmikroskopisch deutlicher sichtbar als bei 1/8 der MHK.

Stamm 9520/81 zeigt bei 1/4 der MHK die Veränderungen jedoch oft nicht

ganz so eindrucksvoll wie Stamm 1039/82.

Die Befunde der Semidünnschnitte entsprechen auch bei dieser Hemmstoffstufe den Befunden der Abklatschpräparate.

Unter dem Einfluß von Penizillin erscheinen bei 1/4 MHK allgemein mehr Zellen vergrößert als bei 1/8 MHK. Es sind auch Zellen vergrößert, die sich an der Bildung von Diplokokken oder Tetraden beteiligen (Abb. 15).

Auch die Ceftrizoxim-Präparate zeigen qualitativ bei 1/4 MHK dieselben Befunde wie bei 1/8 MHK, jedoch sind bei 1/4 MHK die Veränderungen stärker ausgeprägt (Abb. 16).

Die Zellen sind weiter vergrößert. In besonderem Maße vergrößert sind Zellen, die an Tetraden beteiligt sind, die man durchaus als Riesentetraden bezeichnen kann (Abb. 16, Insert).

Tetraden kommen häufiger vor, manchmal sind sogar die Septen zwischen den Zellen einer Tetrade sichtbar.

In geringem Umfang treten lysierende Zellen und Zellreste auf (Abb. 16).

Bei den Cefotiam-Präparaten (Abb. 17) tritt die Vergrößerung der Gonokokken bei 1/4 MHK deutlicher hervor.

Tetraden und auch Riesentetraden prägen das Bild, doch es kommen auch andersartige Konglomerate, wie z.B. Triaden, vor.

3.5.2. Elektronenmikroskopie

Die elektronenoptischen Befunde bei 1/4 MHK bestätigen die lichtoptischen Befunde und lassen zudem weitere Veränderungen erkennen.

Die Penizillin-Präparate dieser Hemmstoffstufe (1/4 MHK) weisen vergrößerte Einzelzellen und Diplokokken auf.

Manchmal zeigen sich andere Konglomerate, wie z.B. Triaden (Abb. 18).

Weiterhin lassen sich Vorwölbungen einzelner Zellwandbereiche, verdickte Septen und meist gerade in diesem Bereich auch Bläschenbildungen erkennen.

Degenerierende und bereits lysierende Bakterien sind ebenfalls deutlich zu sehen (Abb. 18, Abb. 19).

Anschnitte von tubulären Mesosomen (Abb. 19) treten bei $1/4$ der MHK von Penizillin häufiger auf als bei den Kontrollen ohne Hemmstoff.

Unter dem Einfluß von Ceftizoxim stimmen bei $1/4$ MHK (Abb. 20, Abb. 21) die Veränderungen an Membran und Zellorganellen qualitativ mit den Befunden bei $1/8$ MHK überein, sind bei $1/4$ MHK jedoch stärker ausgeprägt. Dies trifft auch auf die allgemeine Zellvergrößerung zu.

Eine auffällige Erscheinung stellen Ablagerungen von Zellwandmaterial außerhalb der Zytoplasmamembran dar (Abb. 21).

Viele Zellen der Cefotiam-Präparate bei $1/4$ MHK erscheinen vergrößert, sowohl die Einzelzellen und Diplokokken, als auch die Konglomerate wie beispielsweise die Tetraden.

Relativ häufig treten mäßig verdickte Septen auf (Abb. 22), manchmal jedoch sind auch extrem verdickte Septen zu sehen (Abb. 24).

Unabhängig von der Dicke des Septums treten Blasen oft gerade aus diesem Bereich hervor (Abb. 25, Abb. 26), hin und wieder auch aus anderen Zellwandbereichen (Abb. 22; Abb. 23).

In vielen Zellen liegen zusätzliche Membraneinschlüsse (Abb. 22), die manchmal fast die Größe eines normalen Gonokokkus erreichen können oder auch die Zelle in Kompartimente unterteilen.

Vorwölbungen der Zellwand an oft mehreren Stellen geben der Zelle ihre oft ausgeprägte Asymmetrie (Abb. 22).

Mesosomen kommen recht häufig vor und sind verhältnismäßig groß. Es sind von fast normalen tubulären oder lamellären Mesosomen über zusammengesetzte Mesosomen bis zu manchmal äußerst ungeordneten Mesosomen die unterschiedlichsten Mesosomstrukturen vertreten (Abb. 24, Abb. 26).

Ein deutlich sichtbarer Anteil des Zellmaterials besteht aus degenerierenden (Abb. 24) und auch lysierenden Zellen (Abb. 22).

3.6. MORPHOLOGIE VON NEISSERIA GONORRHOEAE BEI 1/2 DER MHK VON PENIZILLIN, CEFTIZOXIM, CEFOTIAM.

In Tabelle 3.4. sind die 1/2-Werte der MHK zusammengestellt.

Tabelle 3.4.: 1/2 MHK-Werte in μg Hemmstoff pro ml Nährboden.

Stamm	Hemmstoff		Penizillin		Ceftizoxim		Cefotiam	
9520/81			0,016	$\mu\text{g/ml}$	0,001	$\mu\text{g/ml}$	0,016	$\mu\text{g/ml}$
1039/82			0,125	$\mu\text{g/ml}$	0,004	$\mu\text{g/ml}$	0,062	$\mu\text{g/ml}$

3.6.1. Lichtmikroskopie

Bei 1/2 MHK jedes Hemmstoffs ist das Zellbild der Abklatschpräparate beider N. go. Stämme allgemein von lysiertem Material geprägt. Die Veränderungen sind bei Stamm 9520/81 nicht ganz so stark ausgeprägt wie bei Stamm 1039/82.

Die Befunde der Abklatschpräparate dieser Hemmstoffstufe (1/2 MHK) stimmen mit dem Bild der entsprechenden Semidünnschnitte überein.

Unter dem Einfluß von Penizillin erscheinen fast alle Zellen vergrößert und kommen häufig Riesendiplokokken und Riesentetraden vor. Außerdem ist ein großer Anteil des Zellmaterials lysiert (Abb. 27, Abb. 28).

Auch die Ceftizoxim-Präparate zeigen bei 1/2 MHK (Abb. 29, Abb. 29, Insert 1) mehr lysiertes Material als bei 1/4 MHK.

Der Großteil der noch nicht lysierten Zellen - einschließlich der Diplokokken und Tetraden - ist entweder vergrößert oder pyknotisch, normale Zellen kommen nur noch selten vor.

Bei den Cefotiam-Präparaten der Stufe 1/2 MHK treten gegenüber der Stufe 1/4 MHK vermehrt vergrößerte Zellen, Tetraden, Riesentetraden und andersartige Konglomerate auf.

Zusätzlich gehören auch hier regelmäßig lysiertes Material und Pyknose zum allgemeinen Zellbild.

3.6.2. Elektronenmikroskopie

Das elektronenoptisch gewonnene Bild der Hemmstoffstufe 1/2 MHK bestätigt die lichtoptischen Befunde.

Im großen und ganzen unabhängig von Hemmstoffart und Bakterienstamm zeigen die elektronenmikroskopischen Bilder bei 1/2 MHK qualitativ dieselben Veränderungen wie bei 1/4 MHK, zum Teil jedoch stärker ausgeprägt. Dies trifft in besonderem Maße auf die Degeneration und Lyse der *N. go.* Zellen zu.

Die Penizillin-Präparate zeigen eine Vergrößerung nunmehr fast aller Einzelzellen und Diplokokken (Abb. 30).

Viele Septen sind verdickt, zum Teil treten Bläschen daraus hervor. Häufig sind Vorwölbungen einzelner Zellwandbereiche.

Tubuläre Mesosomen kommen vermehrt vor, außerdem sind bei dieser Stufe (1/2 MHK) jetzt auch lamellär-tubuläre (kombinierte) Mesosomen vorhanden (Abb. 30, Abb. 31).

Ein großer Anteil des Materials besteht aus degenerierenden und lysierenden Zellen (Abb. 31).

Unter dem Einfluß von Cefprozoxim reichte das vom Stamm 1039/82 bei 1/2 MHK gewachsene Material nicht zu einer sinnvollen Aufbereitung für die elektronenmikroskopische Untersuchung aus. Die elektronenoptischen Befunde bei 1/2 MHK von Cefprozoxim sind allein aus Material des Stammes

9520/81 gewonnen.

Das Bild bei 1/2 MHK zeigt die Veränderungen, die auch schon bei 1/4 MHK vorhanden sind.

Auffällig sind verdickte Septen, die bei 1/2 MHK sehr häufig auftreten und nicht selten extrem verdickt sind.

Weiterhin ist der Anteil degenerierender und lysierender Zellen deutlich erhöht.

Auch bei den Cefotiam-Präparaten stimmen die Veränderungen an Membran, Zellorganellen und Größe bei 1/2 MHK (Abb. 32, Abb. 33) im wesentlichen mit den Befunden bei 1/4 MHK überein.

Mehr in den Vordergrund treten Degeneration und Lyse.

3.7. MORPHOLOGIE VON NEISSERIA GONORRHOEAE BEI 1/1 DER MHK VON PENIZILLIN, CEFTIZOXIM, CEFOTIAM.

3.7.1. Lichtmikroskopie

Unter dem Einfluß der MHK ist lichtmikroskopisch nur vereinzelt Zellmaterial zu sehen. Es handelt sich um Zellreste (Abb. 29, Insert 2).

3.7.2. Elektronenmikroskopie

Eine Aufbereitung für die Elektronenmikroskopie mit diesem äußerst geringen Material ist im Rahmen dieser Arbeit nicht durchführbar.

4. B E S P R E C H U N G

4.1. MORPHOLOGIE OHNE EINFLUSS VON ANTIBIOTIKA

Die lichtoptische Untersuchung liefert nur einen groben Überblick über die Morphologie von *Neisseria gonorrhoeae* und ergibt kaum mehr als Hinweise auf den Teilungsmodus: zum einen zweidimensionales Wachstum und Teilung durch Ausbildung von Septen (57), zum anderen Vorhandensein zweier Teilungsebenen bei der Bildung von Tetraden (38).

Die elektronenmikroskopischen Befunde lassen Einzelheiten aus dem Gonokokkenlebenszyklus erkennen.

Die geringe Häufigkeit der Gonokokken ohne jegliches Anzeichen für Teilung läßt darauf schließen, daß *N. go.* nur kurze Zeit in der Interphase vorliegt, der Phase zwischen zwei Teilungen, die vor allem der Verdoppelung des genetischen Materials dient (8, 55).

Der Teilungsbeginn zeigt sich durch eine geringgradige Einschnürung und dem Einwachsen der Zellmembranen (beginnende Septumbildung) in der Äquatorialebene von außen nach innen.

Der vollständige Septumschluß erfolgt dann offenbar unter dem Einfluß des Mesosoms.

Die teilweise und die daran anschließende völlige Trennung zweier Tochterzellen mit jeweils eigenem Kernäquivalent (Nukleoid) beendet den Teilungsvorgang.

Die Teilung kann in unterschiedlichen Entwicklungsstadien gestört werden, was zu abnormalen Zellen - z.B. mit Blasen -, zu Zellkonglomeraten - z.B. Tetraden - oder auch zum Einhalt der Teilung mit anschließender Degeneration und Lyse führen kann.

Man muß bedenken, daß oben angeführte Veränderungen bereits ohne Einfluß von Antibiotika (Hemmstoffen) auftreten, will man die unter Hemmstoffeinfluß auftretenden Effekte richtig bewerten (21).

4.2. MORPHOLOGIE UNTER DEM EINFLUSS DER HEMMSTOFFE PENIZILLIN, CEFTIZOXIM, CEFOTIAM.

In Deutschland isolierte N. go. Stämme weisen bereits relativ hohe MHK-Werte für Penizillin auf (24) und sind daher auch entsprechend Penizillin-unempfindlich. Dennoch kann Penizillin in den meisten Fällen die Gonorrhoe heilen (16,S.31, 37,S.372, 50,S.91).

Ein wichtiger Grund hierfür liegt wohl in der stark antibakteriellen Wirksamkeit des Penizillins auf Gonokokken bereits weit unterhalb der MHK.

Schon bei $1/2$ MHK sind weitgehende Schädigungen der Gonokokkenstruktur bis hin zur Lyse nachweisbar. Es handelt sich vorwiegend um Veränderungen, die auch ohne Einfluß von Hemmstoffen spontan im normalen Lebenszyklus auftreten können, unter Penizillineinwirkung jedoch wesentlich häufiger vorkommen.

Außerdem ist diese Häufung pathologischer Strukturen deutlich von der Konzentration des Antibiotikums abhängig.

Im Gegensatz zu den Kontrollen ohne Antibiotikum sieht man unter dem Einfluß von Penizillin auch kombinierte (lamellär-tubuläre) Mesosomen. Membraninklusionen im Zytoplasma sind wesentlich seltener vorhanden als bei den Cephalosporinen.

Die MHK-Werte der Cephalosporine liegen, allgemein betrachtet, günstiger als bei Penizillin, besonders der MHK-Wert des Cefitizoxims liegt wesentlich niedriger.

Sowohl Cefitizoxim als auch Cefotiam nehmen bereits in subinhibitorischen Konzentrationen Einfluß auf die Gonokokkenmorphologie, wobei die Veränderungen bei Cefitizoxim schon bei $1/8$ MHK, bei Cefotiam erst bei $1/4$ MHK deutlich zu erkennen sind.

Auch unter dem Einfluß der beiden Cephalosporine treten in Abhängigkeit von der Konzentration gehäuft Veränderungen auf, die schon in geringerer Zahl aus dem normalen Lebenszyklus bekannt sind.

Viele dieser Veränderungen lassen sich als Folge eines gestörten Teilungsablaufs der Zelle auf Grund der Einwirkung des Cephalosporins Cefitizoxim bzw. Cefotiam auf die Zellwandsynthese erklären (11,S.499, 53,S.91); Beispiele hierfür sind Veränderungen der Größe und der Zusammen-

lagerung (z.B. Tetradenbildung), die ja bereits lichtoptisch zu erkennen sind.

Im großen und ganzen gleichen die bei den Cephalosporinen erhobenen Befunde denen bei Penizillin.

Charakteristisch für den Einfluß eines Antibiotikums schlechthin scheint das Auftreten zusammengesetzter (kombinierter) und auch ungeordneter bis stark desorganisierter Mesosome zu sein.

Erstere sind auch bei Penizillin zu sehen; letztere nur bei den verwendeten Cephalosporinen.

Eine überschüssige Ablagerung von Zellwandmaterial außerhalb der Zytoplasmamembran tritt nur bei Ceftizoxim auf, nicht bei Cefotiam und nicht bei Penizillin.

Möglicherweise stellt dieser Befund eine Spezifität des Ceftizoxims dar.

Die verwendeten β -Lactam-Antibiotika unterscheiden sich in ihrer Wirkung insofern, als sie erste deutliche Veränderungen bei unterschiedlichen subinhibitorischen Konzentrationen hervorrufen.

Veränderungen unter Cephalosporineinfluß treten in Bezug auf die MHK genereller bei niedrigeren Konzentrationen auf als unter Penizillin; Ceftizoxim wiederum hat bereits bei $1/8$ der MHK, Cefotiam erst bei $1/4$ der MHK eindrucksvolle Veränderungen zur Folge.

Letztendlich scheinen noch Unterschiede in der Art der Veränderungen auf bestimmten Konzentrationsstufen zu bestehen; z.B. sind bei $1/4$ der MHK von Cefotiam die Septen in besonderem Maße verändert, was bei Ceftizoxim derselben MHK-Stufe weit weniger der Fall ist.

4.3. ABSCHLIESSENDE BETRACHTUNG

Abschließend bleibt nur nochmals zu sagen, daß Penizillin G auch heute noch als Mittel der Wahl gegen die Gonorrhoe gilt (19, 50,S.91).

Die hier verwendeten neueren Cephalosporine Ceftizoxim und Cefotiam bieten jedoch eine echte Alternative, besonders bei der Behandlung β -Lactamase-bildender, Penizillin G-resistenter Gonokokkenstämme, die ja immer häufiger auftreten (2, 19, 60,S.614).

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit untersuchte ich die Wirkung der beiden Cephalosporine und β -Lactam-Antibiotika Ceftizoxim und Cefotiam auf die Morphologie zweier Stämme des Gram-negativen Bakteriums *Neisseria gonorrhoeae* (N. go.) im Vergleich zur Wirkung des Penizillin G, ebenfalls ein β -Lactam-Antibiotikum, und im Vergleich zum antibiotikumunbeeinflussten Wachstum.

Die Konzentration des jeweiligen Antibiotikums in dem zur Kultur verwendeten Dünnschichttransparentagar reichte stufenweise von Null bis hinauf zur minimalen Hemmkonzentration (MHK) für den entsprechenden Bakterienstamm.

Der licht- und elektronenoptisch durchgeführte Vergleich ergab quantitative und qualitative Veränderungen des morphologischen Erscheinungsbildes.

Die Art der Veränderung hing deutlich von der Konzentration des Antibiotikums ab und zeigte sich nicht so sehr für ein einzelnes der drei verwendeten β -Lactam-Antibiotika (Penizillin, Ceftizoxim, Cefotiam) spezifisch.

6. ANHANG : ABBILDUNGEN ZUM TEXT

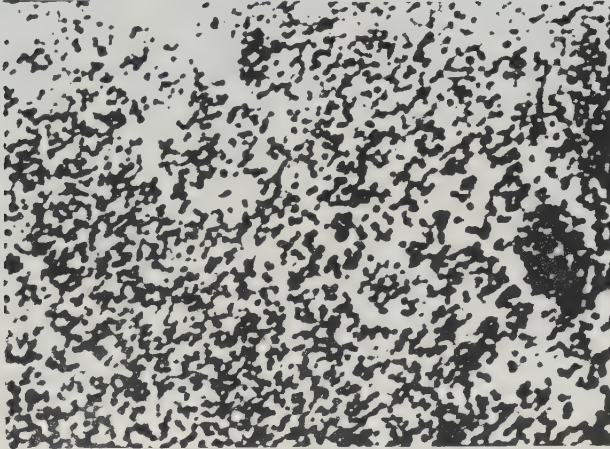


Abb. 1 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar. Abklatschpräparat, 1250 x : Kokken, Diplokokken gleicher Größe, vereinzelte Tetraden.

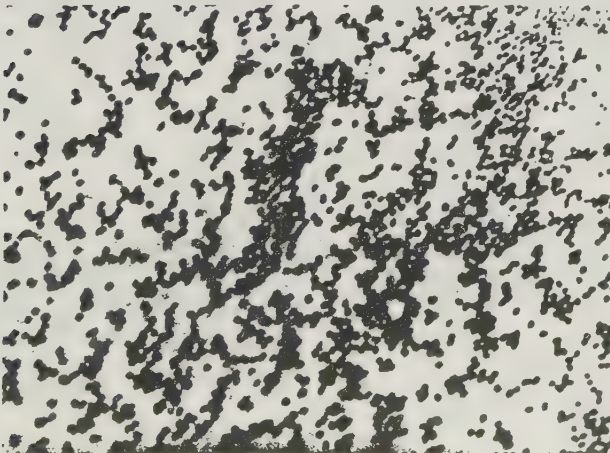


Abb. 2 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar. Semidünnschnitt, 1250 x : Kokken, Diplokokken gleicher Größe, vereinzelte Tetraden.

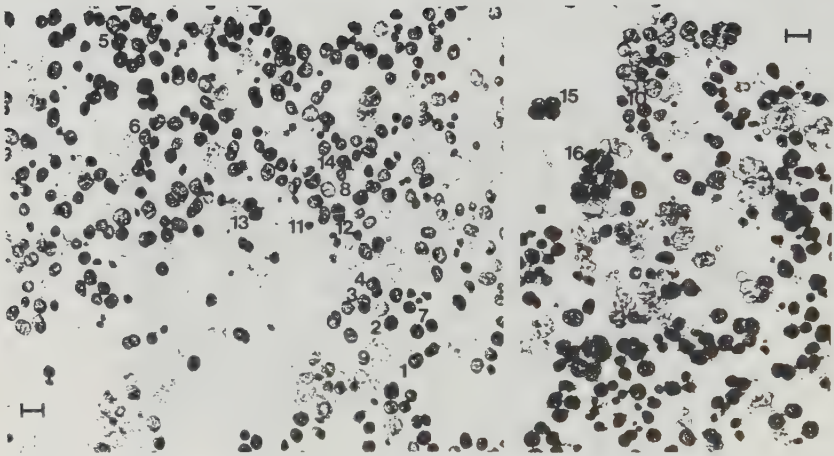


Abb. 3 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar. Ultradünnschnitt, 3500 x : Unterschiedliche Stadien des normalen Lebenszyklus (Details s. Text). I $\cong$ 1 μ m.

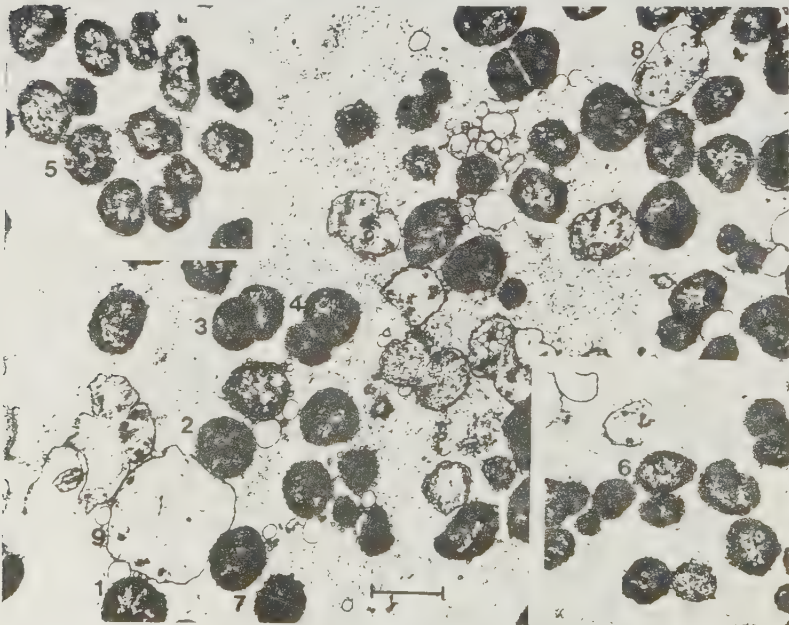


Abb. 4 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Unterschiedliche Stadien des normalen Lebenszyklus (Details s. Text). I $\cong$ 1 μ m.

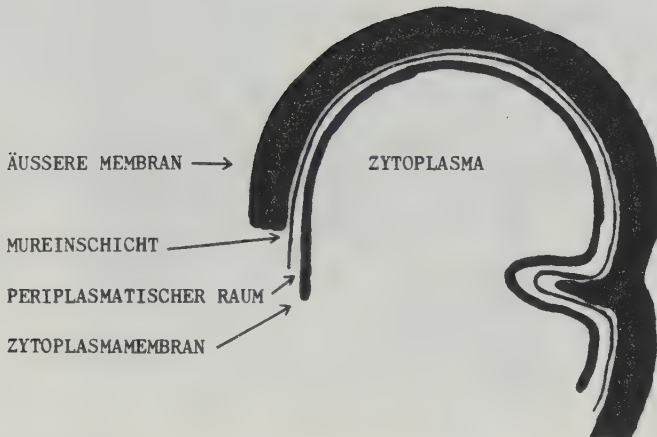


Abb. 5 : Beteiligung verschiedener Wandstrukturen bei der Septenbildung.
Schemazeichnung nach GOODELL et al. (14).

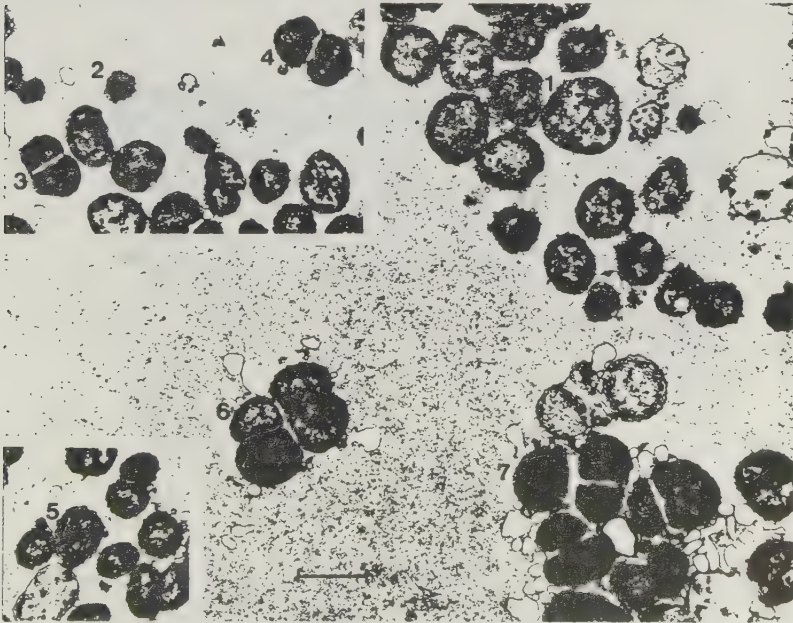


Abb. 6 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar. Ultradünnschnitt,
12 000 x : Verschiedene pathologische Formen des Lebenszyklus.
H $\cong$ 1 µm.



Abb. 7 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Penizillin. Abklatschpräparat, 1250 x : Vereinzelt vergrößerte Zellen, gehäuft Tetraden.



Abb. 8 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Ceftizoxim. Abklatschpräparat, 1250 x : Unterschiedlich vergrößerte Zellen, vereinzelte Riesenzellen, vergrößerte Diplokokken, einige Konglomerate.

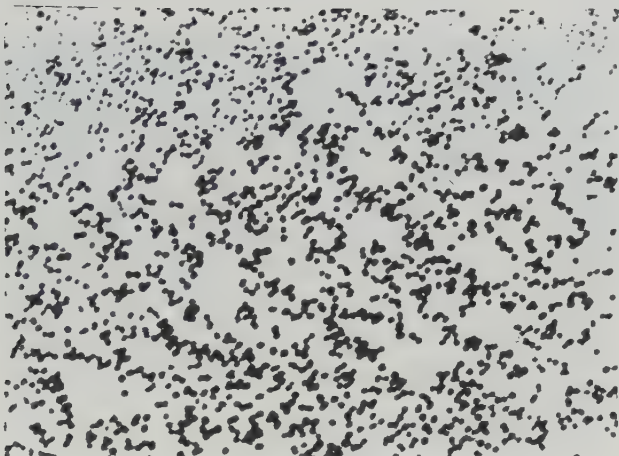


Abb. 9 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Cefotiam. Abklatschpräparat, 1250 x : Vergrößerung einiger Zellen, besonders der Diplokokken.

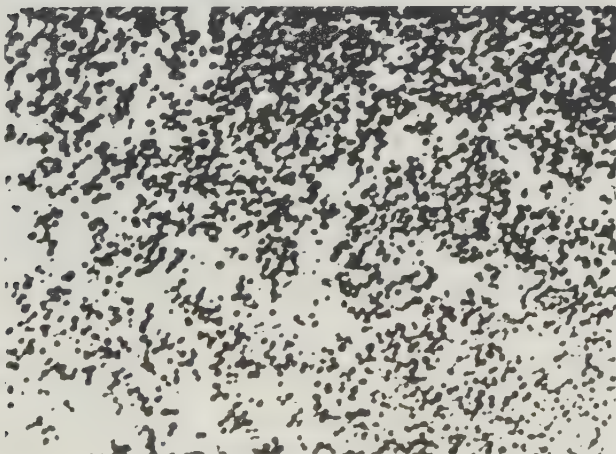


Abb. 10 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Cefixim. Semidünnschnitt, 1250 x : Unterschiedlich vergrößerte Zellen, vereinzelt Riesenzellen, vergrößerte Diplokokken, einige Konglomerate.

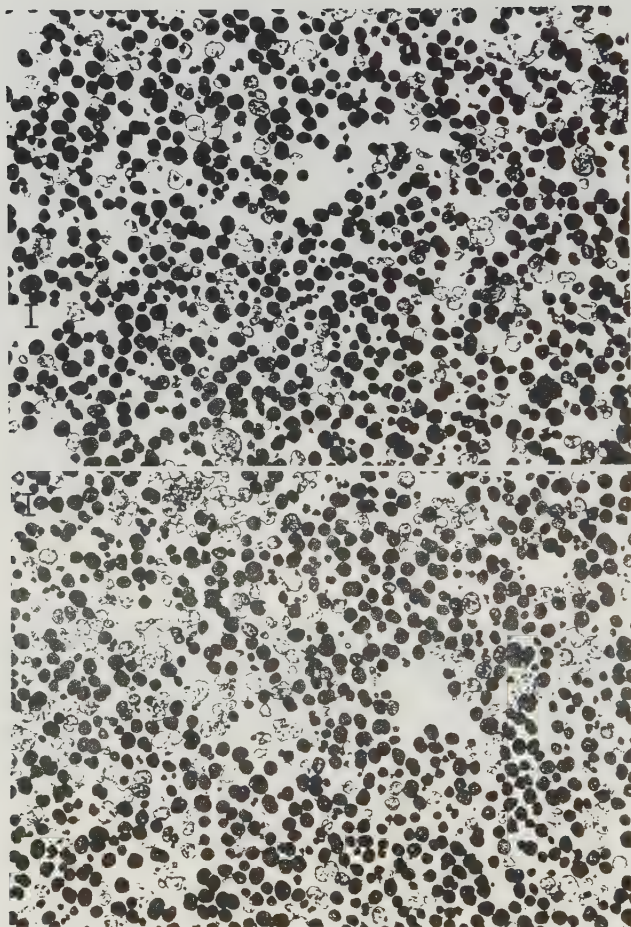


Abb. 11 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Ceftizoxim. Ultradünnschnitt, 3500 x : Mäßige Zellvergrößerung. Viele noch nicht völlig getrennte Zellen. Mehrere Konglomerate (besonders Tetraden). Strukturveränderungen von Membranen und Mesosomen bereits bei dieser Vergrößerungsstufe erkennbar (s. auch folgende Abbildungen). $\mu \approx 1 \mu\text{m}$.

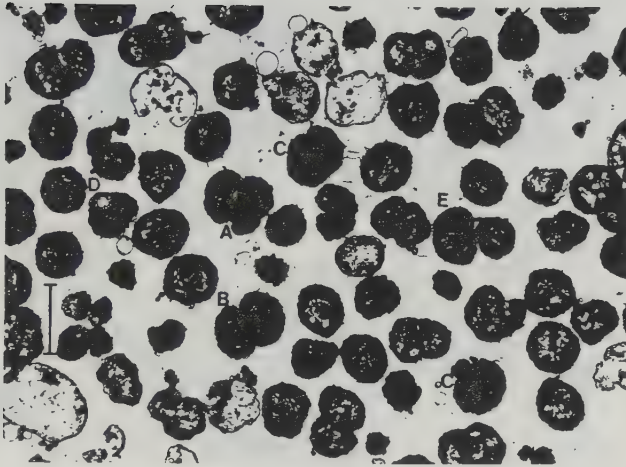


Abb. 12 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Cefprozim. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Septumverdickung (A). Blasenvorwölbung aus dem Septum (B). Zusätzliche Membraneinschlüsse (C, C). Mesosom aus tubulären und lamellären Strukturen (D). Triade (E). $\bar{H} \approx 1 \mu\text{m}$.

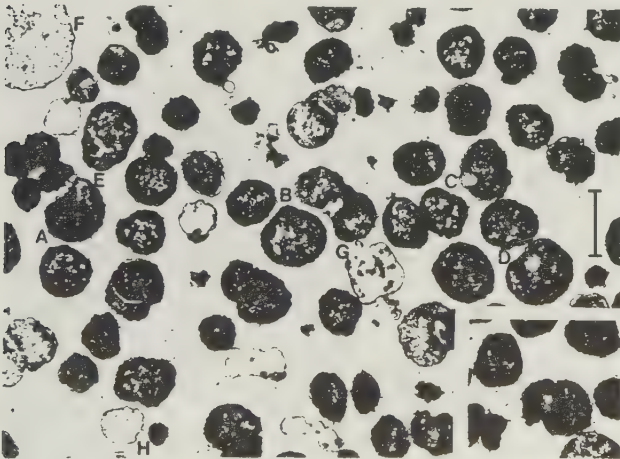


Abb. 13 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Cefprozim. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Membraneinschluß (A). Zytoplasmaausbuchtung (B). Tubuläres (C) und lamelläres (D) Mesosom. Desorganisiertes Mesosom (E). Große degenerierende Zelle (F). Große lysierende Zelle (G). Pyknotische Zelle (H). Insert: Desorganisiertes Mesosom. $\bar{H} \approx 1 \mu\text{m}$.

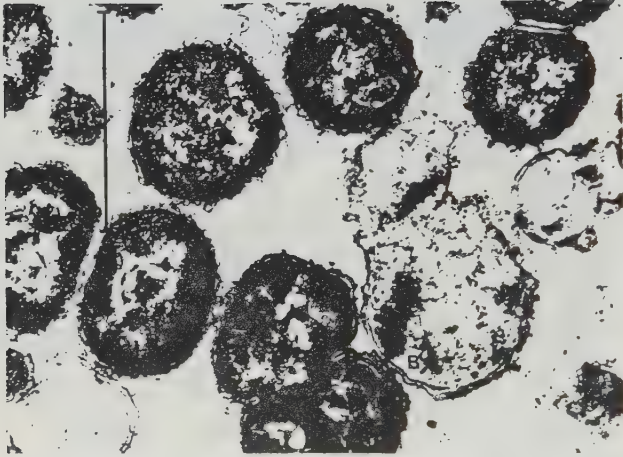


Abb. 14 : N. go. (9520/81) auf Transparentagar mit 1/8 MHK von Ceftizoxim. Ultradünnschnitt, 38 000 x : Membraneinschluß (A). Lysierende Zelle (B): Äußere Membran, Mureinschicht, periplasmatischer Raum und Zytoplasmamembran noch teilweise erhalten. $1 \mu \approx 1 \mu \text{m}$.

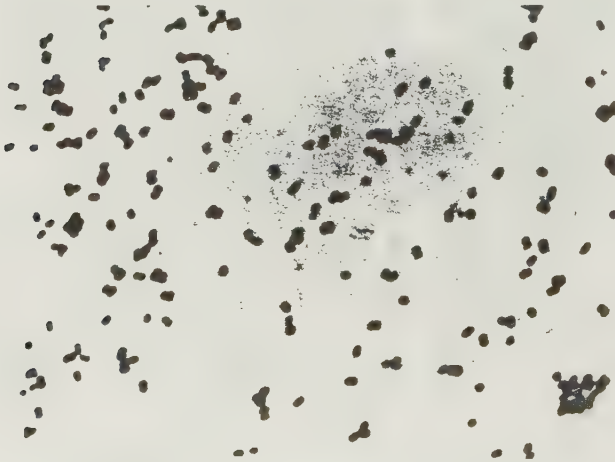


Abb. 15 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Penizillin. Abklatschpräparat, 1250 x : Vermehrt vergrößerte Zellen. Gehäuft Tetraden.

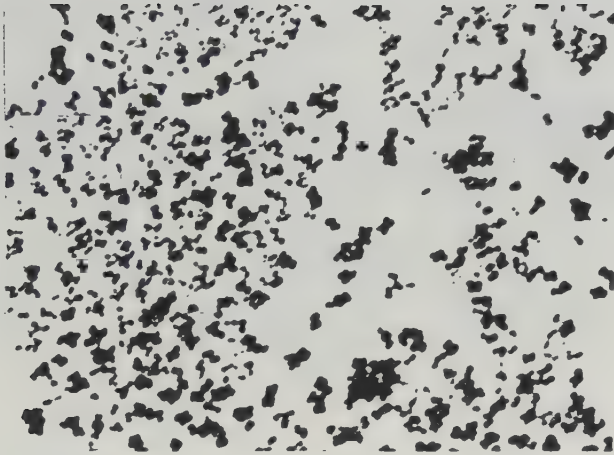


Abb. 16 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Ceftizoxim. Abklatschpräparat, 1250 x : Zellvergrößerung. Tetraden gehäuft. Einige Riesentetraden. Insert: Typische Riesentetrade.



Abb. 17 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Abklatschpräparat, 1250 x : Vermehrt vergrößerte Zellen. Bildprägend sind Tetraden und auch Riesentetraden (besonders linker, oberer Quadrant). Auftreten andersartiger Konglomerate wie Triaden (Mitte, links).

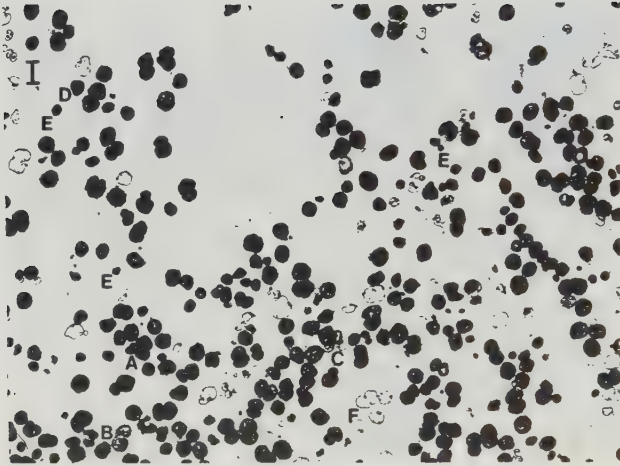


Abb. 18 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Penizillin. Ultradünnschnitt, 3500 x : Gehäuft vergrößerte Zellen. Vergrößerte Diplokokken. Triadenbildung (A). Verdickung des Septums (B), zum Teil mit Ausbildung eines Bläschens (C). Vorwölbung einzelner Zellwandanteile (D). Pyknotische Zellen (E, E). Lytisches Material (F). $\bar{H} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

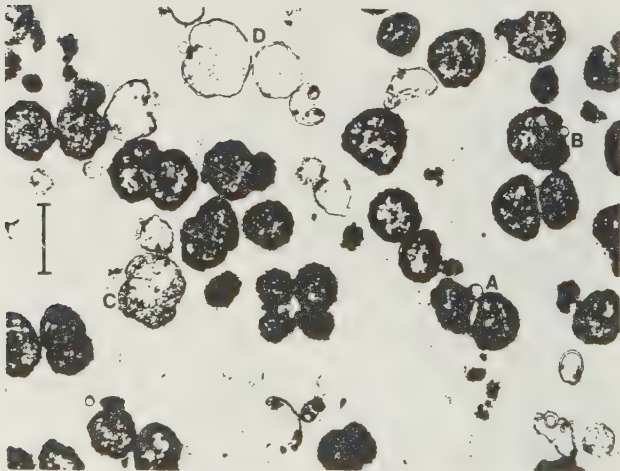


Abb. 19 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Penizillin. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Verdickung des Septums, zum Teil mit Bläschenbildung (A und B). Tubuläres Mesosom (A). Degeneration (C) und Lyse (D). $\bar{H} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

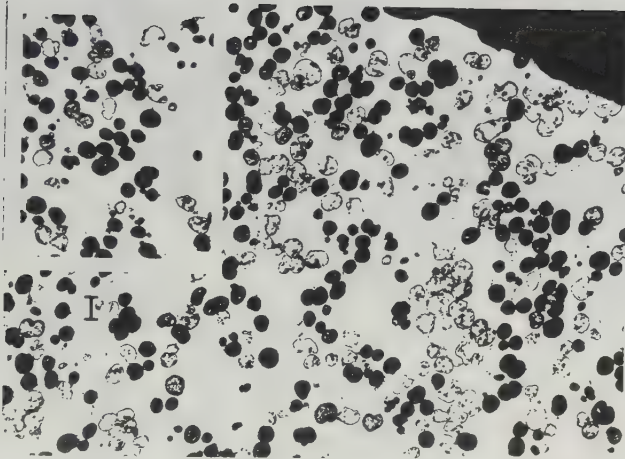


Abb. 20 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Ceftizoxim. Ultradünnschnitt, 3500 x : Viele Zellen vergrößert. Degenerierende und lysierende Zellen. Vorkommen von Zellwandablagerungen außerhalb der Zytoplasmamembran. Insert: Große Blase, die aus dem Septum hervortritt. (Details s. auch Abb. 21). $\bar{H} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

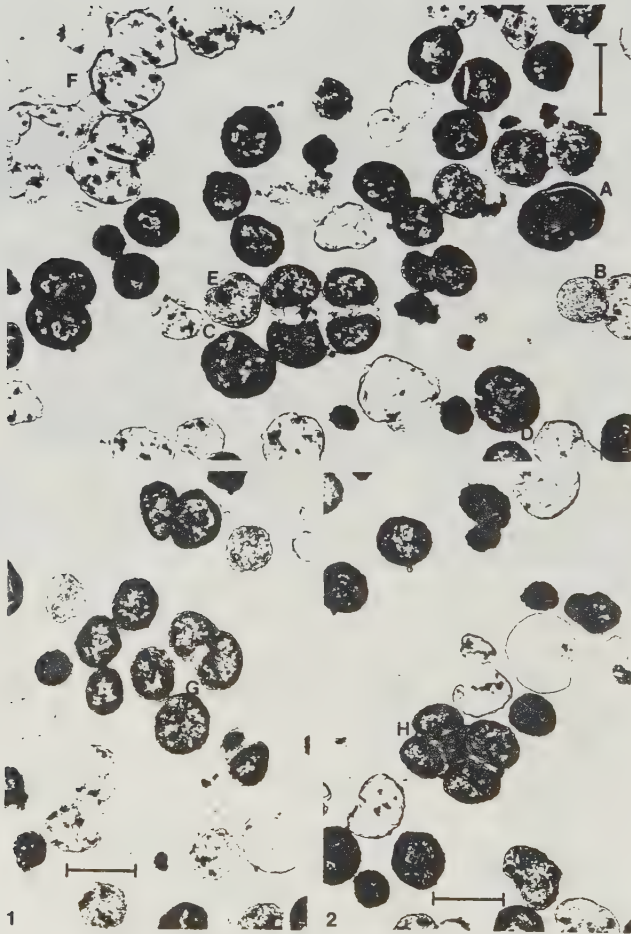


Abb. 21 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Ceftizoxim. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Zellwandablagerung außerhalb der Zytoplasmamembran (A). Große Blase, die aus der Zellwand hervortritt (B). Vorwölbung von Zellwandanteilen (C). Membraneinschlüsse (A und D). Tubuläres Mesosom (E). Lysierender Zellhaufen (F). Insert 1: Große Blase, die aus dem Septum hervortritt (G). Insert 2: Große Tetrade mit Überschuß an Zellwandmaterial (H). $\text{—} \approx 1 \mu\text{m}$.

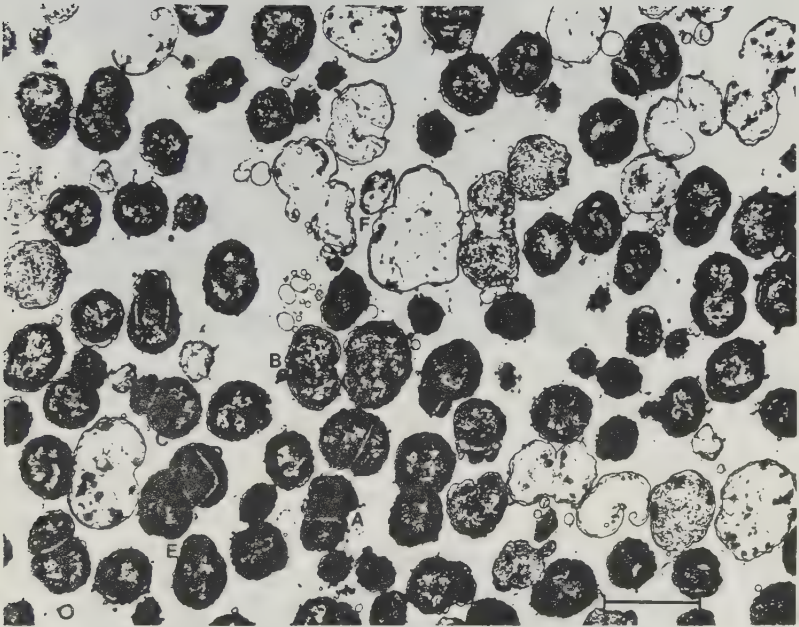


Abb. 22 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 16 800 x : Zellvergrößerung. Septumverdickung (A). Blase, die aus der Zellwand hervortritt (B). Zusätzliche Membranstrukturen (C und D). Zellvorwölbung (E). Lyse (F). $\bar{\text{I}} \approx 1 \mu\text{m}$.

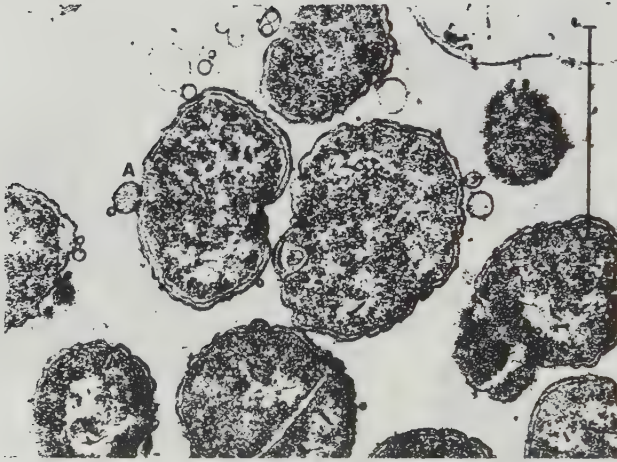


Abb. 23 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 38 000 x : Blase, die aus der Zellwand hervortritt (A, Ausschnitt aus Abb. 22). $\overline{\text{H}} \cong 1 \mu\text{m}$.

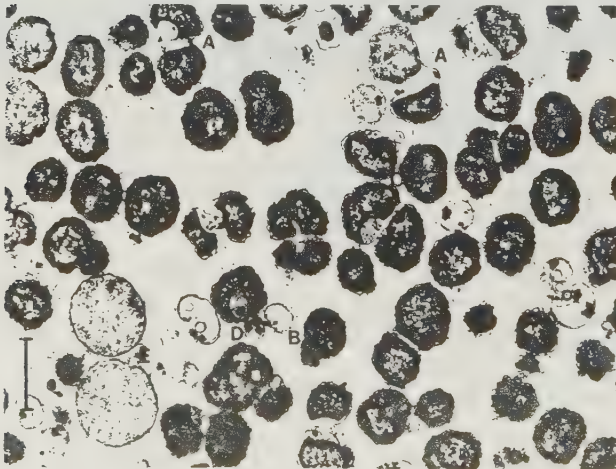


Abb. 24 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Stark verdickte Septen (A, A). Lamelläres Mesosom (B). Tubuläres Mesosom (C). Zusammengesetztes (kombiniertes) Mesosom (D). Degenerierende Zellen (E). $\overline{\text{H}} \cong 1 \mu\text{m}$.

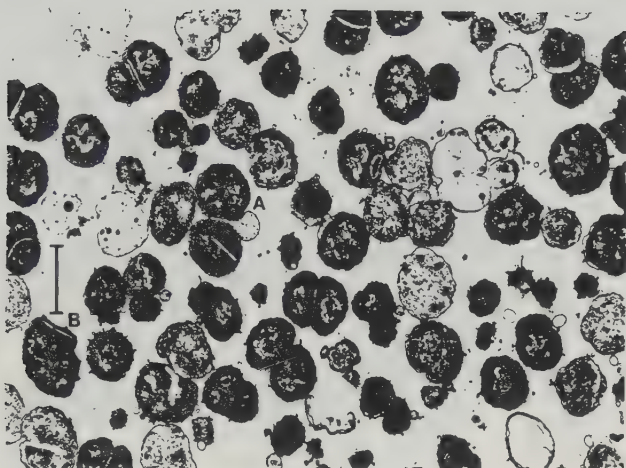


Abb. 25 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Blase, die aus dem Septum hervortritt (A). Zusätzliche Membranstrukturen (B, B). $\bar{\perp} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

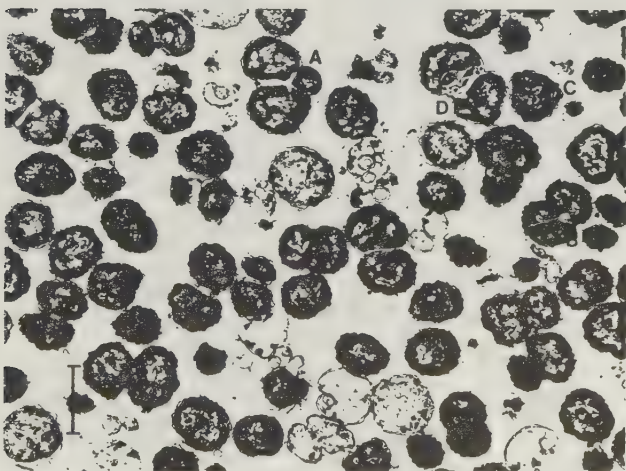


Abb. 26 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/4 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Blase, die aus einem verdickten Septum hervortritt (A). Lamelläres Mesosom (B). Tubuläres Mesosom (C). Stark ungeordnetes Mesosom (D). $\bar{\perp} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.



Abb. 27 : N. go. (9520/81) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Penizillin. Abklatschpräparat, 1250 x : Zellen fast generell vergrößert. Viele Riesendiplokokken und -tetraden. Reichlich lytisches Material.

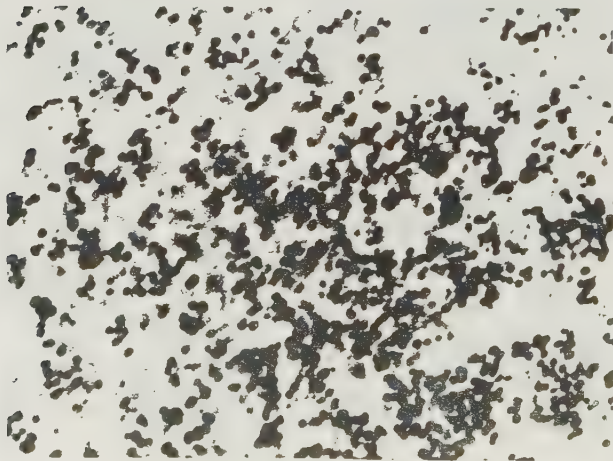


Abb. 28 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Penizillin. Semidünnschnitt, 1250 x : Zellen fast generell vergrößert. Viele Riesendiplokokken und -tetraden. Reichlich lytisches Material.

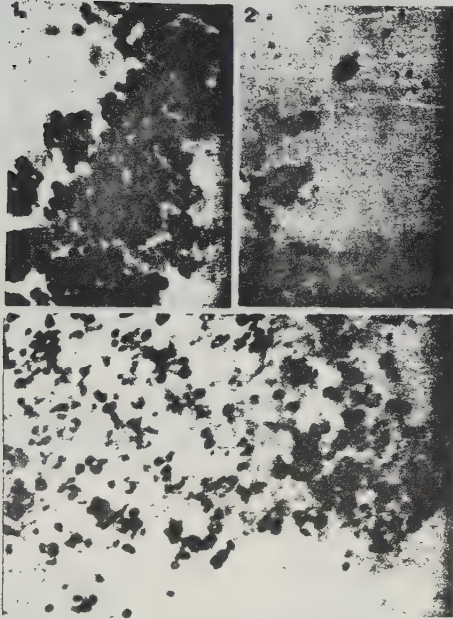


Abb. 29 : N. go. (1039/82) auf Transparentagar mit 1/2 MHK (und 1/1 MHK, Insert 2) von Ceftizoxim. Abklatschpräparat, 1250 x : Vorwiegend vergrößerte oder pyknotische Zellen. Großer Anteil lysiertes Material. Insert 1: Allmählicher Übergang von vergrößerten zu lysierten Zellen. Insert 2: Völlige Abwesenheit normaler Zellen. Lysereste. Pyknotische Konglomerate.

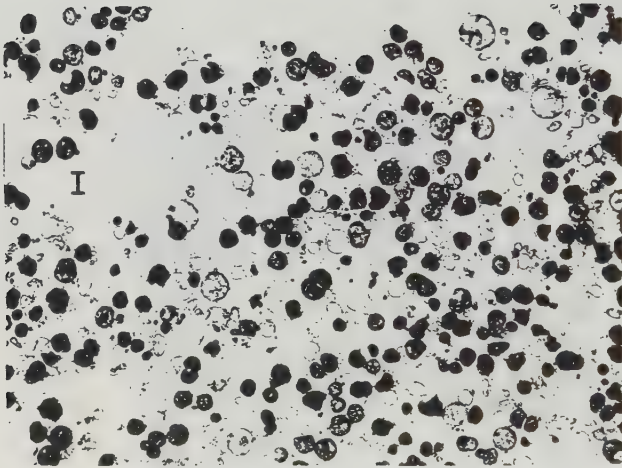


Abb. 30 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Penizillin. Ultradünnschnitt, 3500 x : Viele vergrößerte Einzelzellen und Diplokokken. Vorwölbung einzelner Zellwandbereiche. Vermehrt tubuläre Mesosomen. Selten lamellär-tubuläre Mesosomen. I $\hat{=}$ 1 μ m.

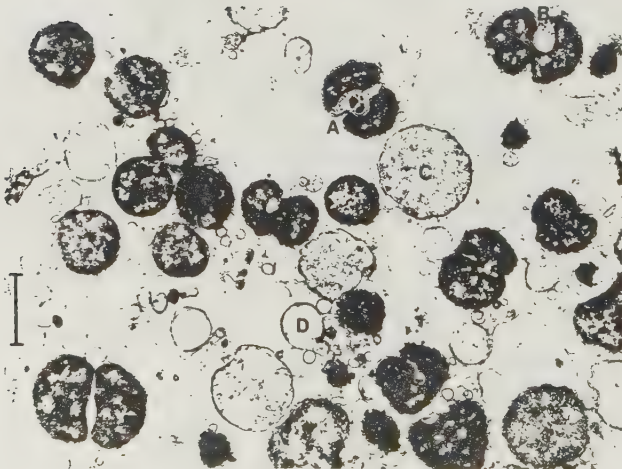


Abb. 31 : *N. go.* (9520/81) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Penizillin. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Ausschnitt aus Abb. 30: Mesosomen vermehrt; tubulär (A) und lamellär-tubulär (B). Degenerierende (C) und Lysierende (D) Zellen. I $\hat{=}$ 1 μ m.

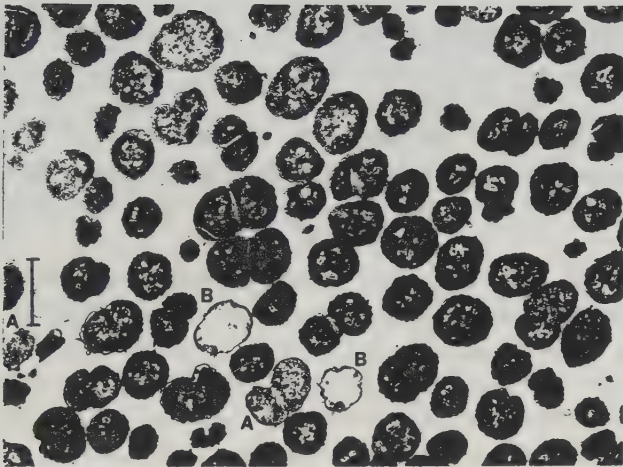


Abb. 32 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 12 000 x : Mehrere Zytoplasmainschlüsse. Gehäuft Mesosomen unterschiedlicher Struktur. Degeneration (A) und Lyse (B). $\bar{\perp} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

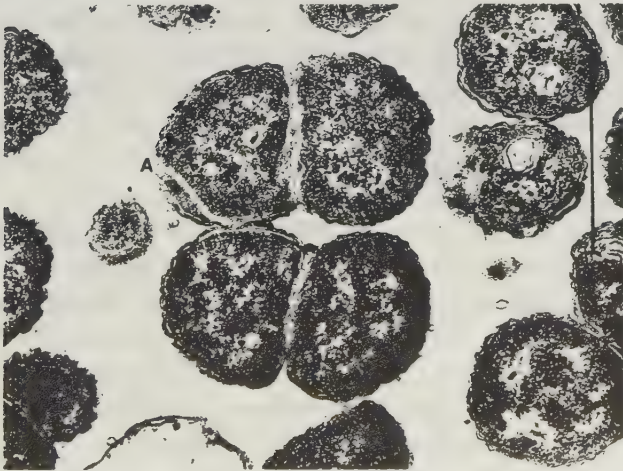


Abb. 33 : *N. go.* (1039/82) auf Transparentagar mit 1/2 MHK von Cefotiam. Ultradünnschnitt, 38 000 x : Ausschnitt aus Abb. 32: Zusätzliche Membranstruktur (A). $\bar{\perp} \hat{=} 1 \mu\text{m}$.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 ARKO, R.J.; J.C., BULLARD; W.P., DUNCAN: Effects of Laboratory Maintenance on the Nature of Surface Reactive Antigens of *Neisseria gonorrhoeae*. Brit. J. vener. Dis. 52: 316-325 (1976).
- 2 ASHFORD, W.A.; R.G., GOLASH; V.G., HEMMING: Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. Lancet, Vol.II: 657-658 (1976).
- 3 BARBOUR, A.G.; L.W., MAYR; B.G., SPRATT: Mecillinam Resistance in *Escherichia coli*: Dissociation of Growth and Inhibition and Morphologic Change. J. Infect. Dis. 143: 114-121 (1981).
- 4 BLUNDELL, J.K.; H.R., PERKINS: Effects of β -Lactam Antibiotics on Peptidoglycan Synthesis in Growing *Neisseria gonorrhoeae*, Including Changes of O-Acetylation. J. Bacteriol. 147: 633-641 (1981).
- 5 BRAVENY, I.; K., MACHKA: Activity of Cefotiam (CGP 14 221/E) against *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Neisseria meningitidis*, Including β -Lactamase-producing Isolates, in Vitro. In: Current Chemotherapy and Infectious Disease, Vol.I Proceedings of the 11th ICC and the 19th ICAAC, New York: 225-227 (1980).
- 6 BURDETT, I.D.J.; R.G.E., MURRAY: Septum Formation in *Escherichia coli*: Characterization of Septal Structure and the Effects of Antibiotics on Cell Division. J. Bacteriol. 119: 303-324 (1974).
- 7 CARLONE, N.A.; A.M., CUFFINI; O., CATTANEO: Structural Changes Induced by Subinhibitory Concentrations of Fosfomycin on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. Microbios 33: 119-128 (1982).
- 8 CZIHAK, G.; H., LANGER; H., ZIEGLER; (Hrsg.): Biologie: ein Lehrbuch für Studenten der Biologie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: (1976).

- 9 DEMARCO de HORMAECHE, R.; M.J., THORNLEY; A.M., GLAUERT: Demonstration by Light and Electron Microscopy of Capsules on Gonococci Recently Grown in Vivo. *J. Gen. Microbiol.* 106: 81-91 (1978).
- 10 FITZ-JAMES, P.: Thin Sections of Dividing *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* 87: 1477-1482 (1964).
- 11 FORTH, W; D., HENSCHLER; W., RUMMEL; (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. B.I.-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich: 3., überarbeitete Auflage (1980).
- 12 GEBHART, W.; W., JURECKA; J., SÖLTZ-SZÖTS; J., THURNER; A., ELLINGER; K., KITZ: Effect of Different Preparation Procedures on the Ultrastructure of Gonococci. *Brit. J. vener. Dis.* 55: 83-89 (1979).
- 13 GIESBRECHT, P.: Die wichtigsten Feinstrukturen im elektronenmikroskopischen Bild. In: Henneberg, G. (Hrsg.): Bildatlas pathogener Mikroorganismen 3. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1969).
- 14 GOODELL, E.W.; M., FAZIO; A., TOMASZ: Effect of Benzylpenicillin on the Synthesis and Structure of the Cell Envelope of *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 13: 514-526 (1978).
- 15 GREENWOOD, D.; F., O'GRADY: Comparison of the Responses of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* to Seven β -Lactam Antibiotics. *J. Infect. Dis.* 128: 211-222 (1973).
- 16 GREITHER, A.: Dermatologie und Venerologie. Eine Propädeutik und Systematik. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 3., verbesserte und erweiterte Auflage (1978).
- 17 HENDLEY, J.O.; K.R., POWELL; R., RODEWALD; H.H., HOLZGREFE; R., LYLES: Demonstration of a Capsule on *Neisseria gonorrhoeae*. *N. Engl. J. Med.* 296: 608-611 (1977).

- 18 HENDLEY, J.O.; K.R., POWELL; N.L., SALOMONSKY; R.R., RODEWALD:
Electron Microscopy of the Gonococcal Capsule. J. Infect. Dis.
143: 796-802 (1981).
- 19 HERRMANN, W.P.; K., THIMM: Penizillinresistente Gonorrhoe in der
Bundesrepublik Deutschland. Dtsch. Ärzteblatt 32: 44 (1982).
- 20 JAMES, J.R.; J., SWANSON: The Capsule of the Gonococcus. J. Exp.
Med. 145: 1082-1086 (1977).
- 21 KLAINER, A.S.; C.J., BETSCH: Scanning-Beam Electron Microscopy of
Selected Microorganisms. J. Infect. Dis. 121: 339-343 (1970).
- 22 KLAINER, A.S.; R.L., PERKINS: Antibiotic-induced Alterations in the
Surface Morphology of Bacterial Cells: A Scanning-Beam Electron
Microscope Study. J. Infect. Dis. 122: 323-238 (1970).
- 23 KLAINER, A.S.; R.L., PERKINS: Normal and Abnormal Morphology of
Microorganisms: A Scanning-Beam Electron Microscope Study. JAMA
215: 1655-1657 (1971).
- 24 KORTING, H.C.: In Vitro Susceptibility of Recent Isolates of *Neis-*
seria gonorrhoeae to Cephalosporins of Different Generations and
Penicillin G: A Comparative Evaluation. Dermatologica 168: 67-72
(1984).
- 25 KORTING, H.C.; U., NEUBERT: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae*
to Ceftizoxime in Vitro and in Vivo. Chemotherapy 30: 322-327
(1984).
- 26 LEBEK, G.; E., SEMENITZ; G., GSTRAUNTHALER; W., PFALLER: Verglei-
chende Untersuchung von Tetracyclin, Doxycyclin und Minocyclin bei
chromosomal bzw. plasmidisch tetracyclinresistenten und -empfind-
lichen *Staphylococcus aureus*-Keimen auf MHK, mikrokalorischen
Effekt und ultrastrukturelle Veränderungen. Immun. Infekt. 10:
193-201 (1982).

- 27 LONG, W.S.; C.L., SLAYMAN; K.B., LOW: Production of Giant Cells of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 133: 995-1007 (1978).
- 28 LORIAN, V.: Abnormal Forms of Bacteria. Mt Sinai J. Med. 43: 762-775 (1976).
- 29 LORIAN, V.: Effects of Subminimum Inhibitory Concentrations of Antibiotics on Bacteria. In: Lorian, V. (Hrsg.): Antibiotics in Laboratory Medicine. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.: 342-408 (1980).
- 30 LORIAN, V.; B., ATKINSON: Abnormal Forms of Bacteria Produced by Antibiotics. Am. J. Clin. Pathol. 64: 678-688 (1975).
- 31 LORIAN, V.; B., ATKINSON: Effects of Subinhibitory Concentrations of Antibiotics on Cross Walls of Cocci. Antimicrob. Agents Chemo-ther. 9: 1043-1055 (1976).
- 32 LORIAN, V.; B., ATKINSON: Comparison of the Effects of Mecillinam and 6-Aminopenicillanic Acid on *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 11: 541-552 (1977).
- 33 LORIAN, V.; L.D., SABATH: Penicillins and Cephalosporins: Differences in Morphologic Effects on *Proteus mirabilis*. J. Infect. Dis. 125: 560-564 (1972).
- 34 LUFT, J.H.: Improvements in Epoxy Resin Embedding Methods. J. biophys. biochem. Cytol. 9: 409-414 (1961).
- 35 MASUYOSHI, S.; M., INOUE; M., TAKAOKA; S., MITSUHASHI: Cefotaxime: Binding Affinity to Penicillin-binding Proteins and Morphological Changes of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 31: 1070-1072 (1981).

- 36 MELCHIOR; N.H.; J., BLOM; L., TYBRING; A., BIRCH-ANDERSEN: Light and Electron Microscopy of the Early Response of *Escherichia coli* to a 6 β -Amidinopenicillanic Acid (FL 1060). *Acta path. microbiol. scand. Section B* 81: 393-407 (1973).
- 37 MSD SHARP & DOHME GMBH (Hrsg.): MSD Manual der Diagnostik und Therapie. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore: 3., neubearbeitete Auflage (1984).
- 38 MURRAY, R.G.E.; A., REYN; A., BIRCH-ANDERSEN: The fine Structure of *Neisseria* and Possible Implications in Classification. *Can. J. Pub. Health* 54: 46-47 (1963).
- 39 NAKAO , M.; M., KONDO; K., TSUCHIYA: Light and Electron Microscopy of the Morphological Response of *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* to Cefmenoxime (SCE-1365), a New Broad-spectrum Cephalosporin. *J. Antibiotics* 8: 1046-1054 (1981).
- 40 NEUBERT, U.; H.C., KORTING; G., RUCKDESCHEL: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Cefotaxime: in Vitro Studies and Treatment Results. *Arch. Dermatol. Res.* 274: 321-326 (1982).
- 41 NOVOTNY, P.; J.A., SHORT; P.D., WALKER: An Electron-microscope Study of Naturally Occurring and Cultured Cells of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Med. Microbiol.* 8: 413-427 (1975).
- 42 OFEK, I.; E.H., BEACHEY; A.L., BISNO: Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to Phagocytosis: Relationship to Colonial Morphology and Surface Pili. *J. Infect. Dis.* 129: 310-316 (1974).
- 43 OLMOS, L.: Degeneration of the *Gonococcus* (in various media). *Arch. Derm. Res.* 256: 305-317 (1976).
- 44 OVCINNIKOV, N.M.; V.V., DELEKTORSKIJ: Electron Microscope Studies of *Gonococci* in the Urethral Secretions of Patients with *Gonorrhoea*. *Brit. J. vener. Dis.* 47: 419-438 (1971).

- 45 OVCINNIKOV, N.M.; V.V., DELEKTORSKIJ; B.A., AFANAS'EV: Electron Microscopy of Gonococci in the Urethral Secretions of Patients with Gonorrhoea Treated with Penicillin and Erythromycin. Brit. J. vener. Dis. 50: 179-194 (1974).
- 46 OVCINNIKOV, N.M.; V.V., DELEKTORSKIJ; G.A., DIMITRIEV: Ultrastructure of Gonococci in Acute, Chronic, and Asymptomatic Gonorrhoea. Brit. J. vener. Dis. 52: 230-245 (1976).
- 47 PERKINS, R.L.; M.A., MILLER; Scanning Electron Microscopy of Morphological Alterations in *Proteus mirabilis* Induced by Cephalosporins and Semisynthetic Penicillins. Can. J. Microbiol. 19: 251-255 (1973).
- 48 REYNOLDS, E.S.: The Use of Lead Citrate at High pH as an Electron-opaque Stain in Electron Microscopy. J. cell. Biol. 17: 208-212 (1963).
- 49 RICHARDSON, W.P.; J.C., SADOFF: Production of a Capsule by *Neisseria gonorrhoeae*. Infect. Immun. 15: 663-664 (1977).
- 50 ROHDE, B.: Dermatologie in Stichworten. Glaxo Pharmazeutika GmbH Bad Oldesloe: (1980).
- 51 SCHMID, E.N.: Viability and Ultrastructure of *S. aureus* Treated with Fosfomycin. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 253: 476-488 (1988).
- 52 SCHMID, E.N.: Fosfomycin-Induced Protoplasts and L-Forms of *Staphylococcus aureus*. Chemotherapy 30: 35-39 (1984).
- 53 SIMON, C.; W., STILLE: Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York: 5., neubearbeitete und erweiterte Auflage (1982).

- 54 SWANSON, J.; S.J., KRAUS; E.C., GOTSCHLICH: Studies on Gonococcus Infection. I. Pili and Zones of Adhesion: Their Relation to Gonococcal Growth Patterns. J. Exp. Med. 134: 886-906 (1971).
- 55 VOGEL, G.; H., ANGERMANN: dtv-Atlas zur Biologie Band 1. Deutscher Taschenbuch Verlag, München: 11., Auflage (1976).
- 56 WARD, M.E.: The Bactericidal Action of Spectinomycin on *Neisseria gonorrhoeae*. J. Antimicrob. Chemother. 3: 323-329 (1977).
- 57 WESTLING-HÄGGSTRÖM, B.; T., ELMROS; S., NORMARK; B., WINBLAD: Growth Pattern and Cell Division in *Neisseria gonorrhoeae*. J. Bacteriol. 29: 333-342 (1977).
- 58 WIESMANN, E. : Medizinische Mikrobiologie: ein kurzgefaßtes Lehrbuch. Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 4., überarbeitete und erweiterte Auflage (1978).
- 59 ZIMMERMAN, S.B.; E.O., STAPELY: Relative Morphological Effects Induced by Cefoxitin and other Beta-Lactam Antibiotics in Vitro. Antimicrob. Ag. Chemother. 9: 318-326 (1976).
- 60 ZINK, C. (Bearb.): Pschyrembel Klinisches Wörterbuch: Walter der Gruyter, Berlin, New York: 255., völlig überarbeitete und stark erweiterte Auflage (1986).

Herrn Prof. Dr.med. Dr.h.c. O. Braun-Falco möchte ich für die Überlassung des Themas meinen Dank aussprechen.

Für die Betreuung und Durchsicht der Arbeit danke ich herzlich Herrn Priv.-Doz. Dr.med. H.C. Korting.

Frau B. Bergen-Rieder, Frau E. Januschke, Frau I. Pfab und Frau G. Raith haben mich sehr freundlich unterstützt und mir wertvolle Ratschläge gegeben. Herzlichen Dank!

LEBENS LAUF

Name: Weber

Vornamen: Klara Franziska

Geburtsdatum: 27. April 1959

Geburtsort: München

Abitur: Mai 1978 am Städt. Sophie-Scholl-Gymnasium, München

Studium: Oktober 1978 bis Oktober 1985 an der
Ludwig-Maximilians-Universität, München

Staatsexamen: 30. Oktober 1985: Abschluß des Medizinstudiums mit
dem 3. Teil der Ärztlichen Prüfung.
4. Dezember 1985: Approbation durch das Bayerische
Staatsministerium des Inneren.

